

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06755

研究課題名(和文) Wntシグナル経路を基軸とする気管支随伴リンパ組織-BALT-の顕在化機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanism of parabronchial lymphoid tissue (BAL) based on the Wnt signal pathway

研究代表者

原口 竜摩 (Haraguchi, Ryuma)

愛媛大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：00423690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、BALが肺で顕在化する際の分子作用機序、顕在化したBALのヒト呼吸器疾患における臨床的意義や役割を、Wntシグナルを軸とした解析によって明らかにした。Wntシグナルが活性化した樹状細胞がBAL肺のリンパ濾胞構築にどのように組み込まれていくのかを、Genetic Lineage Tracing法(GLT法)を用いて検討し、WNTシグナルの下流標的分子の組織局在を中心とした解析では、有益な解析結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気道免疫の主体をなすBALの発生機序を完全に解明することは、呼吸器系でBALを自由自在に顕在化させることで粘膜面での免疫防御を最大限に強化し、外来異物の侵入・感染に備えるという予防としての先制医療戦略の確立につながる。新型コロナウイルスの世界的な蔓延は記憶に新しいが、呼吸器感染症に対する有効な対抗手段の重要性や必要性が再認識される中、本研究課題の成果が医学的恩恵を社会にもたらす可能性は十分に考えられる。

研究成果の概要(英文)：BAL (bronchus-associated lymphoid tissue) is a lymphoid tissue that functions as the keystone of airway immune defense against inhalable foreign substances. However, it is only known that it manifests in the bronchiole region of the lungs due to antigen stimulation, and the understanding at the molecular level is still insufficient. Also, excessive BAL makes some airway diseases. We identified the Wnt signal as a signal pathway that promotes BAL, and found that its excessive hyperactivity strongly promotes the development of BAL. We investigated (1) the molecular mechanism of action when BAL manifests in the lungs, and (2) the clinical significance and role of manifested BAL in human respiratory diseases through analysis centered on Wnt signals.

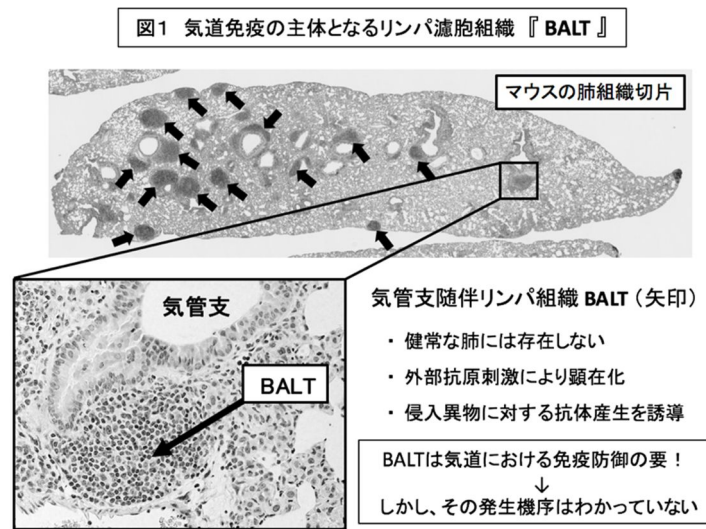
研究分野：組織学、病理学

キーワード：BAL Wntシグナル 組織系譜解析 リンパ組織

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

粘膜は外界との接点が最大となる生体防御の上で重要な部位であり、それ故、そこには 粘膜免疫と呼ばれる全身免疫とは異なる感染防御システムが諸臓器に備わっている。呼吸器において粘膜免疫の主体をなすのが BALT と呼ばれる気管支随伴リンパ組織である(Luhrmann et al., Pathobiology 2002)。BALT は健常肺では存在せず、吸入性の環境抗原に曝されることで、主として気道壁に異所性リンパ組織として顕在化する(図1)。



BALT の機能面における研究は、それを構成する細胞成分やそれらの役割、そこで作用するサイトカインに至るまで詳細な解析がなされているが(Randall, Adv Immunol 2010)、その一方で、健常時には存在しないリンパ濾胞がどのようにして肺内に出現するのか、BALT の発生機序そのものを対象とした研究は大きく立ち遅れた状況にある。

2. 研究の目的

申請者は、 BALT の顕在化に伴い

Wnt シグナルの活性化が肺の樹状細胞で起こる、 樹状細胞での Wnt シグナルの過剰亢進によって抗原刺激に依存することなく BALT が顕在化する、以上2点を先行研究により見出している。本研究では、BALT 顕在化への関与が想定される Wnt シグナル活性化樹状細胞の機能同定を通じて、BALT の発生機序及びその臨床上的意義を明らかにする。

3. 研究の方法

Wnt シグナルの過剰な活性化が肺樹状細胞で生じると、外部抗原刺激を経験することなくリンパ濾胞組織が出現する。『Wnt シグナル活性化樹状細胞がどのように BALT 形成にコミットするのか?』、『Wnt シグナルの下流で BALT 顕在化に寄与する分子は何なのか?』、以上を明らかにするための以下の実験計画を立案した。

- 実験計画(1) BALT 肺における Wnt シグナル受容細胞の細胞系譜追跡
- 実験計画(2) Wnt シグナルの下流で BALT を誘導する分子機序の探索
- 実験計画(3) BALT 肺を背景とした呼吸器系疾患モデルの病態解析

4. 研究成果

実験計画(1)では Axin2creER と Rosa-EGFP レポーターの両アレルをもつマウス新生児に、タモキシフェン(TM)を授乳中の母体へ経口投与することで Wnt シグナル受容細胞をレポーター標識した後、LPS の経鼻投与によって BALT を誘発させた。採取した肺から組織標本を作製し、Wnt シグナルが活性化したことを示す EGFP 発現細胞の分布を示す細胞系譜地図を作成した。実験計画(2)では野生型マウス及び 100%の浸透率で BALT が顕在化する LysMcre/APC 欠損マウスの 2 系統間での遺伝子発現解析によって、Wnt シグナルの制御下において樹状細胞で機能する BALT 顕在化の実行分子を探索している。候補となる遺伝子群が取れてきており、現在も

引き続き解析中である。実験計画(3)では、作製予定の各種病態モデルにおいて BALT が効率的に誘導されないなどの問題があり、解析に難航している。他の疾患モデルへの変更を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitazawa Riko, Haraguchi Ryuma, Kitazawa Sohei	4. 巻 -
2. 論文標題 Histone modifications in histochemistry and cytochemistry	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kitazawa Sohei, Haraguchi Ryuma, Takaoka Yuki, Kitazawa Riko	4. 巻 159
2. 論文標題 In situ sequence-specific visualization of single methylated cytosine on tissue sections using ICON probe and rolling-circle amplification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Histochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 263 ~ 273
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00418-022-02165-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kitazawa Sohei, Ohno Teruyuki, Haraguchi Ryuma, Kitazawa Riko	4. 巻 55
2. 論文標題 Histochemistry, Cytochemistry and Epigenetics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA	6. 最初と最後の頁 1 ~ 7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1267/ahc.21-00095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haraguchi Ryuma, Kitazawa Riko, Kohara Yukihiro, Imai Yuuki, Kitazawa Sohei	4. 巻 388
2. 論文標題 Novel animal model of soft tissue tumor due to aberrant hedgehog signaling activation in pericyte lineage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell and Tissue Research	6. 最初と最後の頁 63 ~ 73
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00441-022-03578-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kohara Yukihiko, Kitazawa Riko, Haraguchi Ryuma, Imai Yuuki, Kitazawa Sohei	4. 巻 154
2. 論文標題 Macrophages are requisite for angiogenesis of type H vessels during bone regeneration in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116200 ~ 116200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2021.116200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haraguchi R, Yamada G, Murashima A, Matsumaru D, Kitazawa R, Kitazawa S	4. 巻 22(3)
2. 論文標題 New Insights into Development of Female Reproductive Tract-Hedgehog-Signal Response in Wolffian Tissues Directly Contributes to Uterus Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 1211(1-12)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22031211	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazawa R, Haraguchi R, Kohara Y, Kitazawa S	4. 巻 529(2)
2. 論文標題 RANK- NFATc1 Signaling Forms Positive Feedback Loop on Rank Gene Expression via Functional NFATc1 Responsive Element in Rank Gene Promoter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 186-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.07.100	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kohara Y, Kitazawa R, Haraguchi R, Imai Y, Kitazawa S	4. 巻 154
2. 論文標題 Macrophages Are Requisite for Angiogenesis of Type H Vessels during Bone Regeneration in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 116200(1-9)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2021.116200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Haraguchi R, Kitazawa R, Kohara Y, Imai Y, Kitazawa S	4. 巻 388
2. 論文標題 Novel animal model of soft tissue tumor due to aberrant hedgehog signaling activation in pericyte lineage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Tissue Res	6. 最初と最後の頁 63-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00441-022-03578-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazawa S, Ohno T, Haraguchi R, and Kitazawa R	4. 巻 55(1)
2. 論文標題 Histochemistry, cytochemistry and epigenetics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.21-00095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 原口竜摩、北澤理子、北澤荘平
2. 発表標題 Wntシグナル調節分子sFRP4の腎臓老化における機能考察
3. 学会等名 第63回日本組織細胞化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口竜摩、北澤理子、今井祐記、北澤荘平
2. 発表標題 ヘッジホッグシグナルの活性化によって生じるマウス下肢軟部腫瘍病変についての解析
3. 学会等名 第40回日本骨代謝学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口竜摩、北澤理子、北澤荘平
2. 発表標題 Wntシグナル調節分子sFRP4の腎臓老化における機能考察
3. 学会等名 第112回日本病理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 原口竜摩、小原幸弘、今井祐記、北澤理子、北澤荘平
2. 発表標題 ヘッジホッグシグナル調節因子Hhipの骨格形成過程における役割
3. 学会等名 第62回日本組織細胞化学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原口竜摩、小原幸弘、今井祐記、北澤理子、北澤荘平
2. 発表標題 ヘッジホッグシグナル調節因子Hhipの骨伸長過程における役割
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原口竜摩、小原幸弘、北澤理子、北澤荘平
2. 発表標題 Wntシグナル調節分子sFRP4の腎臓老化における機能考察
3. 学会等名 第111回日本病理学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------