

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 19 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590836

研究課題名（和文） エリスロポイエチンによる COPD 再生治療

研究課題名（英文）

Regenerative medicine of COPD by Erythropoietin

研究代表者

大野 康 (OHNO YASUSHI)

岐阜大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00334938

研究成果の概要（和文）：

COPD モデルラビットの作製をエラスターゼの経気道吸入にて行った。エラスターゼ投与 4 週間後の病理学的検討でヒト COPD 類似の肺の気腫性変化を認めた。一方、COPD に対する治療として抗酸化作用を有し、PD4 阻害作用のある、Tetomilast 投与を経口にて施行した。4 週間後の評価にて肺気腫様変化への進展が抑制された。また、血清学および組織評価にて酸化ストレスの抑制を認め、呼吸機能の悪化の進行の抑制も認めた。

研究成果の概要（英文）：

We made COPD model rabbit by elastase inhalation. As a result, the pulmonary emphysema-like change of the lungs of the human COPD resemblance. It enforced the Tetomilast dosage to provide PD4 inhibition having an antioxidant action as treatment orally. The progress to a pulmonary emphysema-like change was controlled by the evaluation four weeks later. In addition, the restraint of the aggravation of the restraint breathing function of the oxidation stress.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000

年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：慢性閉塞性肺疾患

科研費の分科・細目：呼吸器内科学

キーワード：COPD エリスロポイエチン 再生医学

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢化社会の到来と依然として高い喫煙率より COPD の罹患率および死亡数は急激に増加を認めている。2001 年に発表された大規模疫学調査研究の結果では、日本には約 530 万人の患者がいると推定される。また全世界においても WHO（世界保健機関）の統計では、COPD は世界の死亡原因の第 4 位にランクされ、今後数十年の間に、ますます患者数と死亡率が高まることが予測されている。しかし現在、COPD に対する根治的な治療法がないのが現状であり、今後新しい再生治療を用いた治療戦略の開発が必要であると考えられる。私どもはこれまでに本学大学院医学系研究科再生医科学分野、循環・呼吸病態学教授、湊口らとともに様々の疾患の再生治療研究に取り組み、循環器分野では、G-CSF を用いた再生治療および骨髄および

胚性幹細胞を用いた再生治療研究を世界に先駆けて開発してきた (Circulation 2004, Minatoguchi et al, Am J Pathol. 2006, Miyata et al)。一方、呼吸器分野においても、COPD に対する再生療法として自己骨髄幹細胞を COPD の動物モデルである肺気腫ラビットに経気道的に投与することにより肺組織の repair に成功した (Experimental Lung Research 2006, Yuhgetsu et al)。また、われわれは COPD の病態におけるアポトーシスの関与についての研究を行い、Fas 欠損(lpr) マウスを用いて肺気腫マウスにおける肺胞組織のアポトーシスの経路には Fas/Fas-Ligand path Way が関与しないことを明らかにした (Experimental Lung Res.2007, Sawada M et al)。

2. 研究の目的

EPO(erythropoietin)は腎性貧血に使用される薬剤であるが近年、EPOには臓器保護効果を認める報告もあり、われわれは慢性心不全マウスに対してEPOを投与することにより酸化ストレスおよび炎症性サイトカインを減少させ、心筋の保護効果があることを発表した(Cardiovasc Res.2006, Li et al)。

Saline EPO-DDS(erythropoietin drug delivery system)Drug delivery systemを用いたEPO投与は心筋保護作用を有し、作用機序は酸化ストレスと炎症性サイトカインの減少である。COPDの病態にも酸化ストレス、炎症性サイトカインの関与することが明らかにされた。呼吸器領域においてこれまでの報告では、COPD患者でBFU-EPO値は同程度の低酸素血症を伴う肺線維症患者に比較して有意な低下を認め、EPOがCOPDの病態の関与することが示唆された(Med Sci Monit 2005, Argirlos et al)。また、in vitroの実験系において、EPOはhypoxiaの状態のlung endothelial progenitor cellsのmobilization, homingに関与するとの報告もある(Am JPhysiol Lung Cell Mol

Physiol. 2007, Balasubramaniam et al)。

以上よりEPOはCOPDの病態に関与し、肺の再生にも関与する可能性が考えられ、新たな肺組織における再生医療のKey moleculeである可能性が考えられる。

また、肺の再生を考える場合、各種サイトカインに加えて、酸化ストレスの抑制も重要な因子となる。これまでに多くの酸化ストレスを抑制する薬剤が開発されたが、PD4阻害作用を有する化合物にTetomilastがある。この化合物は、in vitroにおいて肺胞上皮の酸化ストレスの抑制作用が報告されており、今回我々は、強い酸化ストレス抑制作用を有するTetmomilastを用いることによりCOPD発症進展に強く関与すると考えられる酸化ストレスを抑制することにより動物モデルでのCOPDの進展の予防効果を検討した。

3. 研究の方法

Japan White Rabbitを使用し、

- ①Sham群 (コントロール)、
- ②PPE群 (COPD作製のためのエラストーゼ投与)、

③PPE/Tetomilat 群 (エラスターゼ+抗酸化作用を有する薬剤:Tetomilast) の 3 群に分けて行った。Sham 群は、Japan White Rabbit に PBS 2 ml を経気管内投与し、蒸留水を週 5 日間、4 週間経口投与した。PPE 群は、ブタ豚エラスターゼ (PPE: 200 U/kg) を 2 ml PBS にて溶解して経気管内投与し肺気腫 (COPD) Rabbit を作成し、蒸留水を週 5 日、4 週間経口投与した。PPE/Tetomilat 群は、PPE: 200 U/kg を 2 ml PBS にて溶解して経気管内投与し (COPD) PPE 投与翌日から Tetomilast 10mg/kg を週 5 日間、4 週間経口投与した。各群共に投与 4 週間後に呼吸機能を測定後、肺胞洗浄を行い、組織を採取し、窒素固定、OTC 包埋、ホルマリン固定をした。検体は酸化ストレスマーカー、アポトーシスなどを評価した。

4. 研究成果

コントロールとしての Sham 群に比し、エラスターゼ経気道投与 PPE 群では 4 週間後の評価にて病理学的に肺胞壁の破壊を認め、ヒト COPD 類似の病理変化への進展を認めた。一方、PPE/Tetomilast 群では PPE 群に比し、病理学的に肺胞壁破壊が抑制さ

れ肺気腫病変への進展が抑制された。

また、そのメカニズムとして、肺胞組織の免疫組織染色にて酸化ストレスマーカーの発現の抑制を認め、血清の評価でも同様に酸化ストレスの抑制を認めた。また細胞死に関与するアポトーシスに関しても COPD ではアポトーシス細胞の増加を認めるが PPE/Tetomilast 群では PPE 群に比し アポトーシス陽性細胞が有意に低下を認めた。

また Rabbit の呼吸機能評価では Sham 群に比し PPE 群では肺活量の増加の抑制を認めたが、PPE/Tetomilast 群では Sham 群と同様に肺活量の増加の抑制を認めなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Bulin Baila, Yasushi Ohno, Hisashi Nagamoto, Kounori Kotosai, Youichi Yabuuchi, Norihiko Funaguchi, Fumitaka Ito, Junki Endo, Hidenori Mori, Genzou

Takemura, Takako Fujiwara, Hisayoshi
Fujiwaraa , Shinya Minatoguchi :
Tetomilast attenuates elastase-induced
pulmonary emphysema through inhibition of
oxidative stress in rabbits.
Biological & Pharmaceutical Bulletin
35(4) 494-502(2012) 査読 有

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大野 康 (OHNO YASUSHI)

岐阜大学・医学系研究科・助教

研究者番号 : 00334938

(2) 研究分担者

湊口 信也 (MINATOGUCHI SHINYA)

岐阜大学・医学系研究科・教授

研究者番号 : 20190697

(3) 連携研究者

()

研究者番号：