

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 24 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591463

研究課題名(和文) アレルギー性気道反応における終末糖化産物受容体の役割の検討

研究課題名(英文) The role of RAGE for allergic airway responses

研究代表者

宮原 信明 (MIYAHARA, NOBUAKI)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：70335610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：RAGEがアレルギー性の気道反応に必須であるかどうかを直接証明するため、RAGEを全く発現しないRAGE knock out (RAGEKO) マウスを用い、抗原感作、吸入後にBAL)液中の細胞分類、およびサイトカインレベルを測定し、コントロールの野生型マウスと詳細に比較検討した。

野生型マウスに比べ、RAGEKOマウスは抗原感作、暴露後の気道の好酸球数および好中球数の低値を示した。また、IL-5, IL-13の濃度は、RAGEKOマウスでは低値を認められた。以上よりRAGEがTh2への感作、そして好酸球性気道炎症に重要な役割をにになっていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) is a multi-ligand receptor which belongs to the immunoglobulin superfamily. RAGE is reported to be involved in various inflammatory disorders, however, studies that address the role of RAGE in allergic airway disease are inconclusive. RAGE sufficient (RAGE+/+) and RAGE deficient (RAGE-/-) mice were sensitized to ovalbumin (OVA), and airway responses were monitored after OVA challenge. RAGE-/- mice showed reduced eosinophilic inflammation and goblet cell metaplasia, lower T helper type 2 (Th2) cytokine production from spleen and peribronchial lymph node mononuclear cells, and lower numbers of group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) in the lung compared to RAGE+/+ mice following sensitization and challenge. Thus, manipulating RAGE represents a novel therapeutic target in controlling allergic airway responses.

研究分野：気管支喘息

キーワード：気管支喘息 RAGE

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は、気道過敏性を有する慢性的な気道の炎症が疾患の特徴であり、Th2 サイトカインを分泌する抗原特異的 CD4T 細胞がその中心的役割を担っていると考えられている。申請者は CD4T 細胞だけでなく、エフェクター CD8T 細胞が IL-13 を産生し、気道過敏性の亢進、好酸球性気道炎症を中心としたアレルギー性気道反応に促進的に働くことを世界で初めて報告した (Miyahara N et al. *Nature Med.* 2004;10:865, *J Immunol.* 2004;172:2549)。さらに、ロイコトリエン B4 受容体の BLT1 を抗原特異的エフェクター T 細胞が発現し、これらの細胞の活性化と炎症局所への遊走に関与し、アレルギー性気道反応に重要な役割を担っていることを報告した (Miyahara N et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:161, *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;40:672)。

一方、近年、気管支喘息の気道炎症として、好酸球性炎症だけでなく、好中球性炎症の関与が示唆されており、特に重症喘息や高齢者への関与が報告されている (J Allergy Clin Immunol. 2010;125: 1163)。RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) は、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜型受容体で、最終糖化産物 (AGE; advanced glycation endproducts) の受容体として同定された。糖尿病や動脈硬化性病変では接着分子の発現を誘導し、血管内皮細胞の増殖の促進、動脈硬化部位での発現増強などが報告されており、これらの酸化ストレスを伴う慢性炎症性疾患での病態に関与する可能性が示唆されている。また、RAGE は、multi-ligand receptor として認識されており、敗血症性ショックでの炎症細胞の後期メディエーターとして認識されている HMGB1 (high mobility group box chromosomal protein-1) や、主に単球、好中球の細胞質に存在し Ca-binding protein family に属する S100A 蛋白もリガンドとされている。

RAGE は気道への発現が強く、急性肺障害の病態に RAGE や HMGB1 が関与していると報告されている。また近年、気管支喘息患者の誘発喀痰中の HMGB1 値が健康人に比し増加し、喀痰中の好中球数と相関しているとの報告されており (Respir Med. 2011;105:519)、RAGE-HMGB1 経路が気管支喘息の病態形成、特に好中球性気道炎症に関与していることが示唆されるが、その役割の詳細については明らかでない。また、AGE 結合領域を有するが膜貫通領域を欠く可溶性 RAGE (sRAGE) はデコイとして働き、AGE の作用を阻害することが知られている。sRAGE の投与により、マウスにおいて急性肺障害および好中球性気道炎症の抑制効果が得られたと報告されている (Am J Respir Crit Care Med. 2008;178:356-62) ことから、アレルギー性気道炎症においても

AGE-RAGE 経路をブロックすることにより好中球性炎症の抑制効果が期待できる。

2. 研究の目的

マウス喘息モデルを用いてアレルギー性気道反応発症における RAGE の役割を明らかにする。

RAGE をコントロールすることが、今後さらに増加すると予想される気管支喘息の新たな治療法となり得る可能性がある

3. 研究の方法

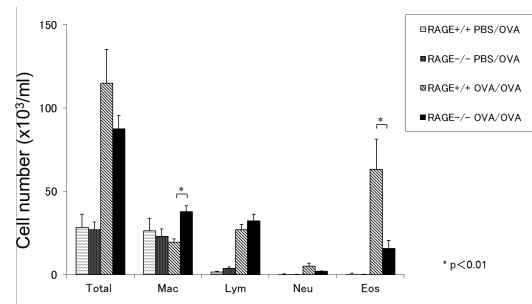
RAGE ノックアウトマウスを用いて喘息モデルを作成し、アレルギー性気道炎症および気道過敏性の亢進における RAGE の役割を解析する。

RAGE 発現のキメラマウス、樹状細胞依存性モデルを作成し、RAGE の血球系および樹状細胞、支持組織への発現の、アレルギー性気道反応に対する重要性を検討する。

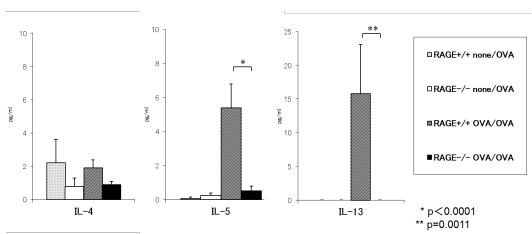
4. 研究成果

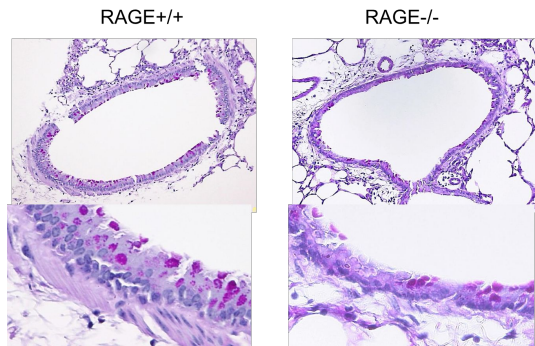
RAGE がアレルギー性の気道反応に必須であるかどうかを直接証明するため、RAGE を全く発現しない RAGE knock out (RAGEKO) マウスを用い、抗原感作、吸入後に気管支肺胞洗浄液中 (BAL) の細胞分類、およびサイトカインレベルを測定し、コントロールの野生型マウスと詳細に比較検討した。

野生型マウスに比べ、RAGEKO マウスは抗原感作、暴露後の気道の好酸球数および好中球数の低値を示した。

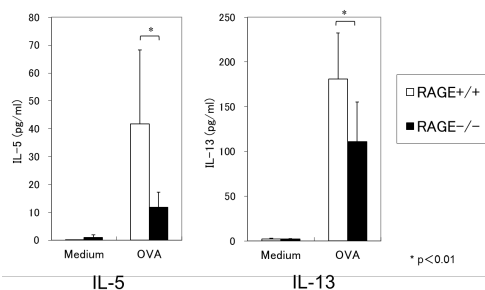


また、BAL 液中の IL-5, IL-13 の濃度は、野生型マウスと比較し、RAGEKO マウスでは低値をしめした。肺組織中の好酸球数、PAS 陽性細胞数も、RAGEKO マウスは、野生型マウスと比較して低値をしめした。





脾臓からのサイトカイン産生能の検討では、RAGEKO マウスの脾臓単核球からの IL-5, IL-13 の産生は野生型マウスより低値をしめした。RAGE が欠損することにより、抗原の感作が不十分となることから、RAGE が Th2 細胞の感作に重要な役割を担っていることが示唆された。以上より RAGE が Th2 への感作、そして好酸球性気道炎症に重要な役割をにになっていることが示唆された。



RAGE は血球系細胞、支持組織細胞の両方に発現していることが知られているが、どちらへの発現がアレルギー性気道炎症に与しているかを、キメラマウスを用いて明らかにした。骨髓移植をおこない、RAGE を血球系のみが発現するマウス、支持組織のみが発現するマウス、両方に発現するマウス、両方ともに発現しないマウスを作成し、それぞれアレルギー性気道炎症を発症させて、好酸球性炎症や杯細胞の過形成などの気道炎症の程度を比較検討した。

血球系にのみ RAGE 発現を欠損するマウスは、RAGE を血球系および支持組織両方に発現するマウスと同程度にアレルギー性気道炎症を惹起した。

一方で支持組織にのみ RAGE の発現を欠損するマウスは、アレルギー性気道炎症の程度が RAGE 発現をすべて欠損するマウスと同程度に低下していた。また、IL-13 などの気道の Th2 サイトカイン産生も、支持組織にのみ RAGE の発現を欠損するマウスは、RAGE 発現をすべて欠損するマウスと同程度に低下していた。

以上より、RAGE の支持組織への発現が、ア

レルギー性気道炎症の進展に重要な役割を担っていることが示唆された。

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)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 谷口 暁彦, 宮原 信明, 金廣 有彦, 早稲田 公一, 栗本 悦子, 能島 大輔, 谷本 安, 片岡 幹男, 木浦 勝行, 山本 靖彦, 山本 博, 谷本 光音

マウスアレルギー性気道炎症モデルにおける終末糖化産物受容体(RAGE)の役割

第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 大阪国際会議場

2014 年 04 月 25 日 ~ 27 日

2. A. Taniguchi, N. Miyahara, A. Kanehiro, K. Waseda, E. Kurimoto, U. Fujii, Y. Tanimoto, M. Kataoka, Y. Yamamoto, E.W. Gelfand, H. Yamamoto, M. Tanimoto.

Allergen-induced airway inflammation requires the receptor for advanced glycation end products triggering on airway structural cells

Annual meeting of American Thoracic Society 2014

2014 年 05 月 17 日 ~ 21 日

サンディエゴ, USA

3. Taniguchi A, Miyahara N, Kanehiro A, Waseda K, Kurimoto E, Fujii U, Tanimoto Y, Kataoka M, Yamamoto Y, Yamamoto H, Gelfand EW, Tanimoto M. Requirement For The Receptor For Advanced Glycation End-Products (RAGE) In Allergen-Induced Airway Inflammation.

109th American Thoracic Society International Conference,

2013 年 05 月 18 日 ~ 22 日

フィラデルフィア, USA

4. Taniguchi A, Miyahara N, Kanehiro A, Waseda K, Kurimoto E, Tanimoto Y, Kataoka M, Yamamoto Y, Yamamoto H, Gelfand EW, Tanimoto M. Contrasting Roles for the Receptor for Advanced Glycation End-Products (RAGE) in Allergic Airway Inflammation Versus Airway Hyperresponsiveness.

108th American Thoracic Society International Conference,

2012 年 5 月 19 日 ~ 23 日

San Francisco, USA

5. 谷口 暁彦, 宮原 信明, 金廣 有彦, 早稲田 公一, 栗本 悦子, 能島 大輔, 谷本 安, 片岡 幹男, 木浦 勝行, 山本 靖彦, 山本 博, 谷本 光音. アレルギー性気道炎症における終

末糖化産物受容体(RAGE)の役割.
第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会、
大阪、2012 年 11 月 29 日 ~ 12 月 1 日

6 . 研究組織

(1)研究代表者

宮原 信明 (NOBUAKI MIYAHARA)

岡山大学病院 講師

研究者番号 : 70335610

(2)研究分担者

金廣 有彦 (ARIHIKO KANEHIRO)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

准教授

研究者番号 : 20243503