

分担研究報告書

環境要因が喘息の気道リモデリングに与える影響についての検討

分担研究者 中尾篤人

順天堂大学医学部アトピー疾患研究センター講師

研究要旨 われわれは喘息発症の環境要因であるディーゼル排気粒子（DEP）が喘息の気道リモデリング病態に及ぼす影響について検討するため気道リモデリングに密接に関係するサイトカインである Transforming growth factor- β (TGF- β)の作用に DEP が与える影響について解析した。可溶化した DEP は、ヒト気管支上皮細胞株 BEAS2B において気道リモデリングの病態に関係するタンパクである plasminogen activator inhibitor-1 の TGF- β による遺伝子/タンパク発現をいずれも増強した。本結果は、DEP がヒト気道上皮細胞における TGF- β 作用を増強する効果を介して、喘息の気道リモデリングに促進的に作用する可能性を示唆した。

協力研究者

高井敏郎 順天堂大学医学部アトピー疾患
研究センター

藤巻秀和 国立環境研究所環境健康部

A.研究目的

気管支喘息の気道リモデリング病態は、喘息を重症化、難治化する要素として注目されているが、その発症機序はいまだ明らかではなく環境因子や遺伝因子の関与もほとんど明らかにされていない。どのような発症機序においても、線維原性サイトカインである Transforming growth factor- β (TGF- β)がその病態形成過程に関与することは多くの報告から支持されている。われわれは本研究において喘息発症の環境要因であるディーゼル排気粒子（DEP）が気道リモデリングに及ぼす影響について検討するため、気道リモデリングに密接に関係するサイトカインである Transforming growth factor- β (TGF- β) の作用に DEP が与える影響について解析した。

B.研究方法

可溶化した DEP をヒト気管支上皮細胞株 BEAS2B 培養中に TGF- β 存在下、非存在下にて加え、気道リモデリングの病態に関係するタンパクである plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)や tenascin の発現に及ぼす効果についてレポーターアッセイ、ウエスタンブロット法によって検討した。

C.研究結果

可溶化した DEP は、単独では、BEAS2B における PAI-1 プロモーター領域を含むレポーター遺伝子(P3TPLux)発現に及ぼす影響は認められなかったが、用量依存的に TGF- β による P3TPLux 発現活性を増強した。タンパクレベル(ウエスタン)においても、可溶化 DEP は用量依存的に TGF- β による PAI-1 の発現を増強した。

D.考察

DEP は気道上皮細胞における TGF- β 作用を転写レベルにおいて増強する効果がある。どのような細胞内シグナル伝達系の活性が、このような作用をもたらすかについて検討することが今後の課題である。

E.結論

DEP はヒト気道上皮細胞における TGF- β 作用を増強する効果があることが示された。この作用を介して、DEP は気管支喘息の気道リモデリングを増強する可能性が示唆された。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

1) Sagara H, Okada T, Okumura K, Ogawa H, Ra C, Fukuda T,

Nakao A. Activation of TGF- β /Smad2 signaling is associated with airway remodeling in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110:249-254, 2002

2) Nakao A, Okumura K, Ogawa H. Smad7: a new key player in TGF- β -associated disease *Trends in Molecular Medicine (Formerly, Mol. Med. Today)* 8:361-363, 2002

3) Nakao A, Sagara H, Setoguchi Y, Okada T, Okumura K, Ogawa H, Fukuda T. Expression of Smad7 in bronchial epithelial cells is inversely correlated to basement membrane thickness and airway hyperresponsiveness in patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110:873-878, 2002

4) Kanamaru Y, Nakao A, Shirato I, Okumura K, Ogawa H, Tomino Y, Ra C. Chronic graft-versus-host autoimmune disease in Fc receptor γ chain-deficient mice results in lipoprotein glomerulopathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13:1527-1533, 2002

5) Simiyoshi K, Nakao A, Ushio H, Mitsuishi K, Okumura K, Tsuboi R, Ra C, Ogawa H. TGF- β 1 suppresses atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *Clin Exp Allergy* 31:309-314, 2002

6) Supajatura V, Ushio H, Nakao A, Akira S, Okumura K, Ra C, Ogawa H. Toll-like receptor 2 and 4 of mast cells have different functional responses in allergy and innate immunity. *J. Clin. Invest.* 109:1351-1359, 2002

7) Suzuki R, Nakao A, Kanamaru Y, Okumura K, Ogawa H, Ra C. Localization of intestinal intraepithelial T lymphocytes involves regulation of α E β 7 expression by TGF- β . *Int. Immunol.* 14:339-345, 2002

8) Inagaki, Y, Nemoto T, Nakao A. Transcriptional regulation of type I collagen gene expression by transforming growth factor- β /Smad signaling and its antagonistic factors. *Connective Tissue* 34:139-146, 2002

9) 中尾篤人 SMAD/TGF- β シグナル 免疫疾患 Ver.2 (別冊医学のあゆみ) page 96-100, 2002

2. 学会発表

1) Atsuhito Nakao. Role of TGF- β /SMAD signaling pathway in homeostatic regulation of the immunesystem.

Symposium 8: Homeostatic regulation and cytokines.
第3 2回日本免疫学会総会学術集会 2002.12.5

2) 中尾篤人、相良博典、岡田武則、奥村康、小川秀興、福田健

気道上皮細胞での Smad7 の発現は喘息患者上皮基底膜肥厚と負に相関する

第5 2回日本アレルギー学会 2002.11.28.アレルギー

51:907

3) Supajatura Volaluck, 牛尾博子、中尾篤人、審良静男、奥村康、羅智靖、小川秀興 Stapylococcus aureus 由来の peptideglycan による Toll-like receptor (TLR)2 を介したマスト細胞の活性化 第5 2回日本アレルギー学会 2002.11.28.アレルギー 51:942

H.知的財産権の出願/登録状況
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|---------------|-------------------------------------|---------------------------------|--|-----------|-----|------|---------|
| 出原賢治 | IL-13をめぐって | 工藤翔二、 土屋了介、 金沢 実、 大田 健 | Annual Review 呼吸器 2002. | 中外医学社 | 東京 | 2002 | 27-31 |
| 杉本理恵、 出原賢治 | IL-4, IL-13シグナル伝達分子の遺伝的多型とアレルギーとの関連 | 羅 智晴 | アレルギーの分子医学的究明と克服 | 医歯薬出版株式会社 | 東京 | 2002 | 3-7 |
| 柳原行義、 羅 智晴 | 可溶性 FcεRIα による IgE 産生抑制 | | 別冊・医学のあゆみーアレルギーの分子医学的研究 | | | 2002 | 71-75 |
| 柳原行義 | IgE・IgE抗体とその産生制御 | | アレルギー病学 | | | 2002 | 38-44 |
| 柳原行義 | IgE産生の分子調節機構 | | アレルギー・リウマチ・膠原病の最新医療 | 先端医療技術研究所 | | 2003 | 109-116 |
| 近藤直実 | 感染とアレルギー | | 先端医療シリーズ19アレルギー・リウマチ・膠原病。アレルギー・リウマチ・膠原病の最新医療 | 先端医療技術研究所 | | 2003 | 117-124 |
| 中尾篤人 | SMAD/TGF-βシグナル | | 免疫疾患Ver.2 (別冊医学のあゆみ) | | | 2002 | 96-100 |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|-------|---------|------|----|-----|-----|
|-------|---------|------|----|-----|-----|

| | | | | | |
|---|---|--|---------|---------|------|
| Izuhara K, Arima K, Yasunaga S. | IL-4 and IL-13 : Their Pathological Roles in Allergic Diseases and their Potential in Developing New Therapies. | Current Drug Targets- Inflammation & Allergy | 1(3) | 263-269 | 2002 |
| Izuhara K, Arima K, Yasunaga S, Yokoi F, Sakata Y, Tanaka G, Yang Q | The importance of interleukin-13 in the pathogenesis of bronchial asthma. | Recent. Res. Devel. Bioch. | 3 | 33-40 | 2002 |
| Arima K, Umeshita-Suyama R, Sakata Y, Akaiwa M, Mao X-Q, Emonoto T, Dake Y, Shimazu S, Yamashita T, Sugawara N, Brodeur S, Geha R Puri RK, Sayegh MH, Adra CN, Hamasaki N, Hopkin JM, Shirakawa T, Izuhara K. | Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma. | J. Allergy Clin. Immunol. | 109(6) | 980-987 | 2002 |
| Matsui K, Yuyama N, Akaiwa M, Yoshida N, Maeda M, Sugita Y, Izuhara K. | Identification of an alternative splicing variant of cathepsin C/dipeptidyl-peptidase I. | Gene | 293 (1) | 1-7 | 2002 |

| | | | | | |
|---|---|-------------|-------------|---------|------|
| Yuyama N, Davies DE, Akaiwa M, Matsui K, Hamasaki Y, Suminami Y, Yoshida NL, Maeda M. Pandit A, Lordan JL, Kamogawa Y, Arima K, Nagumo F, Sugimachi M, Berger A, Richards I, Roberds SL, Yamashita T, Kishi F, Kato H, Arai KI, Ohshima K, Tadano J, Hamasaki N, Miyatake S, Sugita Y, Holgate ST, <u>Izuhara K.</u> | Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. | Cytokine | 19(6) | 287-296 | 2002 |
| Kiyahara C, Otsu A, <u>Shirakawa T,</u> Fukuda S, Hopkin JM. | Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. | Lung Cancer | 37 | 241-256 | 2002 |
| Bottono N, Mao XQ, Borgiani P, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, <u>Shirakawa T,</u> Hopkin JM. | Low molecular weight PTP-IL-4RA interaction in atopy predisposition. | Allergy. | 75:Suppl 72 | 10-12. | 2002 |

| | | | | | |
|---|---|------------------------------------|---------------|----------------|-------------|
| <p>Arima K, Umeshita-Suyama R, Sakata Y, Akaiwa M, Mao XQ, Enomoto T, Dake Y, Shimazu S, Yamashita T, Sugawara N, Brodeur S, Geha R, Puri RK, Sayegh MH, Adra CN, Hamasaki N, Hopkin JM, <u>Shitakawa T</u>, Izuhara K.</p> | <p>Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma.</p> | <p>Allergy Clin Immunol.</p> | <p>109(6)</p> | <p>980-987</p> | <p>2002</p> |
| <p>Bottini N, Borgiani P, Otsu A, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Hopkin J, Mao XQ, <u>Shirakawa T</u>.</p> | <p>IL-4 receptor alpha chain genetic polymorphism and total IgE levels in the English population: two-locus haplotypes are more informative than individual SNPs.</p> | <p>Clin Genat.</p> | <p>61</p> | <p>288-292</p> | <p>2002</p> |
| <p>Donato JL, Ko J, Kutok JL, Cheng T, <u>Shirakawa T</u>, Mao XQ, Beach D, Scadden DT, Sayegh MH, Adra CN.</p> | <p>Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator.</p> | <p>J Clin Invest</p> | <p>109</p> | <p>51-58</p> | <p>2002</p> |
| <p>Tanaka K, Roberts MH, Yamamoto N, Sugiura H, Uefara M, Mao XQ, <u>Shirakawa T</u>, Hopkin JM.</p> | <p>Genetic variants of the receptors for thromboxane A2 and IL-4 in atopic dermatitis.</p> | <p>Biochem Biophys Res Commun.</p> | <p>292</p> | <p>776-780</p> | <p>2002</p> |

| | | | | | |
|---|--|-------------------------|-----|---------|-----------|
| Yu B, Koga T, Urabe K, Moroi Y, Maeda S, <u>Yanagihara Y</u> , Furue M. | Differential regulation of thymus- and activation-regulated chemokine induced by IL-4, IL-13, TNF- α and IFN- γ in human keratinocyte and fibroblast. | J. Dermatol. Sci. | 30 | 29-36 | 2002 |
| Basaki Y, Ikizawa K, Kajiwara K, <u>Yanagihara Y</u> . | CD40-mediated tumor necrosis factor receptor-associated factor 3 signaling upregulates IL-4-induced germline C α transcription in a human B cell line. | Arch. Biochem. Biophys. | 405 | 199-204 | 2002 |
| Kajiwara K, Ra C, <u>Yanagihara Y</u> . | Recombinant soluble form of the high-affinity IgE receptor α subunit and anti-IgE antibody inhibit IgE synthesis by IgE-expressing B cells through distinct pathways. | Allergol. Int. | 51 | 175-184 | 2002 |
| <u>Yanagihara Y</u> . | Regulatory mechanisms of human IgE synthesis. | Allergol. Int. | | | in press. |
| <u>Yanagihara Y</u> . | Regulation of IgE synthesis. | Int. Proc. | | | in press. |

| | | | | | |
|--|--|------------------------|-----|-----------|----------|
| Watanabe, M., Kaneko, H., Shikano, H., Aoki, M., Sakaguchi, H., Matsui, E., Inoue, R., Kato, Z., Kasahara, K., Fukutomi, O., Kondo, T., <u>Kondo, N.</u> | Predominant expression of 950delCAG of IL-18R alpha chain cDNA is associated with reduced IFN-gamma production and high serum IgE levels in atopic Japanese children. | J Allergy Clin Immunol | 109 | 669-675 | 2002 |
| Suzuki, K., Inoue, R., Sakaguchi, H., Aoki, M., Kato, Z., Kaneko, H., Matsushita, S., <u>Kondo, N.</u> | The correlation between ovomucoid-derived peptides, human leucocyte antigen class II molecules and T cell receptor-complementarity determining region 3 compositions in patients with egg-white allergy. | Clin Exp Allergy | 32 | 1223-1230 | 2002 |
| Ohnishi, H., Kato, Z., Watanabe, M., Fukutomi, O., Inoue, R., Teramoto, T., <u>Kondo, N.</u> | IL-18 is associated with severity of atopic dermatitis. | Clin Exp Allergy | | | in press |
| Matsumoto M., M. Kotani, A. Fujita, S. Higa, T. Kishimoto, M. Suemura, and T. <u>Tanaka.</u> | Oral administration of persimmon leaf extract ameliorates skin symptoms and transepidermal water loss in atopic dermatitis-model mice, NC/Nga. | Br J Dermatol | 146 | 221-227 | 2002 |

| | | | | | |
|---|---|--|----|-----------|-----------|
| Higa S., H. Hirata, S. Minami, S. Hashimoto, M. Suemura, Y. Saeki, I. Kawase, and T. Tanaka. | Autoimmune acquired form of angioedema that responded to danazol therapy. | Internal Med | 41 | 398-402 | 2002 |
| Suido H, T. Tanaka, T. Tabei, A. Takeuchi, M. Okita, T. Kishimoto, S. Kasayama, and T. Higashino. | A mixed green vegetable and fruit beverage decreased the serum level of LDL in hypercholesteromic patients. | J Agric Food Chem | 50 | 3346-3350 | 2002 |
| Kasayama S, T. Tanaka, K. Hashimoto, M. Koga, and I. Kawase. | Efficacy of glimepiride for the treatment of diabetes mellitus occurring during glucocorticoid therapy. | Diabetes Care | 25 | 2359-2360 | 2002 |
| Higa S., M. Kotani, M. Matsumoto, A. Fujita, M. Suemura, I. Kawase and T. Tanaka. | Administration of anti-interleukin-18 antibody fails to inhibit development of dermatitis in atopic dermatitis-model mice NC/Nga. | Br J Dermatol | | | in press. |
| Tanaka T, S. Higa, T. Hirano, M. Kotani, M. Matsumoto, A. Fujita, and I. Kawase. | Flavonoids as potential anti-allergic substances. | Current Medicinal Chemistry Anti-Inflammatory & anti-allergy agents. | | | in press. |

| | | | | | |
|--|---|--|-----|---------|-----------|
| Higa S, T. Hirano, M. Mayumi, M. Hiraoka, Y. Ohshima, M. Nambu, E. Yamaguchi, N. Hizawa, N. Kondo, E. Matsui, Y. Katada, A. Miyatake, I. Kawase, and T. Tanaka. | Association between IL-18 gene polymorphism 105A/C and asthma. | Clin Exp Allergy | | | in press. |
| Higa S, M. Kotani, M. Matsumoto, A. Fujita, M. Suemura, I. Kawase and T. Tanaka. | Fisetin, a flavonol, inhibits T helper 2 (Th2) type cytokine production by activated human basophils. | J Allergy Clin Immunol | | | in press. |
| Sagara H, Okada T, Okumura K, Ogawa H, Ra C, Fukuda T, Nakao A. | Activation of TGF- β /Smad2 signaling is associated with airway remodeling in asthma. | J. Allergy Clin. Immunol. | 110 | 249-254 | 2002 |
| Nakao A, Okumura K, Ogawa H. | Smad7: a new key player in TGF- β -associated disease | Trends in Molecular Medicine (Formerly; Mol. Med. Today) | 8 | 361-363 | 2002 |

| | | | | | |
|---|--|---------------------------|-----|-----------|------|
| Nakao A, Sagara H, Setoguchi Y, Okada T, Okumura K, Ogawa H, Fukuda T. | Expression of Smad7 in bronchial epithelial cells is inversely correlated to basement membrane thickness and airway hyperresponsiveness in patients with asthma. | J. Allergy Clin. Immunol. | 110 | 873-878 | 2002 |
| Kanamaru Y, Nakao A, Shirato I, Okumura K, Ogawa H, Tomino Y, Ra C. | Chronic graft-versus-host autoimmune disease in Fc receptor γ chain-deficient mice results in lipoprotein glomerulopathy. | J. Am. Soc. Nephrol. | 13 | 1527-1533 | 2002 |
| Simiyoshi K, Nakao A, Ushio H, Mitsuishi K, Okumura K, Tsuboi R, Ra C, Ogawa H. | TGF- β 1 suppresses atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. | Clin Exp Allergy | 31 | 309-314 | 2002 |
| Supajatura V, Ushio H, Nakao A, Akira S, Okumura K, Ra C, Ogawa H. | Toll-like receptor 2 and 4 of mast cells have different functional responses in allergy and innate immunity. | J. Clin. Invest. | 109 | 1351-1359 | 2002 |
| Suzuki R, Nakao A, Kanamaru Y, Okumura K, Ogawa H, Ra C. | Localization of intestinal intraepithelial T lymphocytes involves regulation of α E β 7 expression by TGF- β . | Int. Immunol. | 14 | 339-345 | 2002 |
| Inagaki, Y, Nemoto T, Nakao A. | Transcriptional regulation of type I collagen gene expression by transforming growth factor- β /Smad signaling and its antagonistic factors. | Connective Tissue | 34 | 139-146 | 2002 |

| | | | | | |
|-----------------|---|-------------------------------|-------|---------|------|
| 出原賢治 | サイトカイン遺伝子とアレルギーの病態 | Allergy 21st Century. | 12 | 7-9 | 2003 |
| 出原賢治、有馬和彦、安永晋一郎 | アレルギー疾患における遺伝因子の機能的解析とその臨床応用 - IL-13を中心に - | Inflammation and Regeneration | 23(1) | 23-28 | 2003 |
| 出原賢治 | IL-13研究の新展開 | 最新医学 | 58(2) | 240-244 | 2002 |
| 出原賢治 | アレルギー疾患治療薬としての試み 可溶性IL-4レセプターと可溶性IL-13レセプター | Molecular Medicine. | 39(5) | 586-590 | 2002 |
| 有馬和彦、出原賢治 | 気管支喘息とIL-13遺伝子多型 | アレルギー・免疫 | 9(10) | 78-83 | 2002 |
| 有馬和彦、出原賢治 | IL-13/IL-13Rの遺伝子多型とその機能 | アレルギー科 | 14(5) | 380-387 | 2002 |
| 有馬和彦、出原賢治 | アトピー候補遺伝子 | Allergy Update | 14(2) | 7-7 | 2002 |
| 有馬和彦、出原賢治 | IL-13および受容体遺伝子 | 喘息 | 15(3) | 43-47 | 2002 |
| 有馬和彦、出原賢治 | 気管支喘息とIL-13遺伝子多型 | アレルギーの臨床 | 22(1) | 33-38 | 2002 |
| 安永晋一郎、出原賢治 | アレルギーの病態における遺伝子発現変化 | 臨床検査 | 46(2) | 205-207 | 2002 |
| 有馬和彦 | IL-13の遺伝子多型 | 臨床免疫 | 38(2) | 157-163 | 2002 |
| 柳原行義 | アトピー体質と遺伝 | アレルギー・免疫 | 9 | 74-80 | 2002 |

| | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------|-----------|----|-----------|------|
| 柳原行義 | IgE産生とアレルギー性炎症におけるサイトカインの役割 | 耳鼻免疫アレルギー | 20 | 29-36 | 2002 |
| 山本ひとみ、品澤美樹、梶原景一、柳原行義 | アトピー遺伝子の同定とその機能解析. | アレルギー・免疫 | 9 | 1174-1180 | 2002 |
| 梶原景一、山本ひとみ、柳原行義 | 成熟B細胞におけるIL-4応答性細胞とIL-13応答性細胞. | アレルギー科 | 14 | 120-126 | 2002 |
| 梶原景一、品澤美樹、山本ひとみ、柳原行義 | AIDの遺伝子多型とその機能 | アレルギー科 | 14 | 403-407 | 2002 |
| 柳原行義 | CD40に依存しない免疫グロブリンクラススイッチ | 臨床免疫 | | | 印刷中 |
| 柳原行義 | IgE抗体産生の調節 | 総合アレルギー学 | | | 印刷中 |
| 小林民代、水道裕久、竹内明、牧野武利、田中敏郎、長岡利 | ラットにおけるブロッコリーの血清コレステロール低減作用 | 日本栄養食糧学会誌 | 55 | 275-280 | 2002 |
| 平野亨、比嘉慎二、田中敏郎 | IL-18遺伝子の多型性と機能 | アレルギー科 | 14 | 400-402 | 2002 |