

研究課題の名称

気管支内視鏡検体より培養したヒト気管支線毛細胞におけるドセタキセル負荷時の線毛運動評価

研究の目的及び意義

<目的>

本研究により、気管支内視鏡検査検体から気管支線毛細胞の培養方法を樹立し、その検体に対してドセタキセル薬物負荷を行った際の粘液線毛輸送系の評価を行うことが目的である。

気管支内視鏡生検検査の適応のある患者に対し、気管支内視鏡検査の際にヒト気管支線毛細胞を気管擦過あるいは気管支洗浄により採取し、ヒト気管支線毛細胞を高速度カメラ付顕微鏡システムを用いて観察し、新鮮気管支線毛細胞の基礎呼吸器疾患の有無での気管支線毛運動の違いについて検討する。

- ①また、ヒト気管支線毛細胞を培養し、線毛運動について高速度カメラを用いて観察することにより培養状態が良好であるかどうかを検討する。
- ②非小細胞肺癌に対し広く用いられている抗がん剤である、ドセタキセルについての非腫瘍気道皮細胞への影響は不明であり、同剤を培養気管支線毛細胞に薬剤負荷することによる気管支線毛運動あるいは線毛形態の差異があるかどうかを検討する。

<意義>

単離したマウスの細気管支線毛細胞を高速度カメラ付顕微鏡で観察し、 $\beta 2$ 刺激剤により線毛運動が活性化される機構を研究し、これまでパラメータとして広く用いられてきた線毛運動周波数 (CBF) のみならず、線毛運動振幅角 (CBA) が増加することから、両者を測定し、微小環境の細胞内 CAMP 濃度の違いにより活性化機構が異なることを確認してきた。また、マウスの臓器レベルでは、肺切片を用いマイクロビーズ送を観察することによりこれまで指標とされてきた CBF のみならず CBA の増加により輸送速度を増加させることも明らかにした。このことは、粘液線毛クリアランスにおいて、CBF、CBA とともに評価することが重要であることを示しており、どちらが欠けても粘液線毛クリアランスが低下し、喀痰排泄が阻害され、結果的には感染症に罹患しやすくなることが推測される。(文献 1 Procatenol -stimulated Increases in Ciliary Bend Amplitude and Ciliary Beat Frequency in Mouse Bronchioles .Cell Physiol Biochem 2012;29:511-522)しかし、ヒト気管支線毛細胞については十分な評価を行っていない。

気道の生体防御機構の一つとして、粘液線毛輸送系は咳反射、肺泡マクロファージと相互に機能し重要な役割をはたしている。Tilley らの Review によると、様々な呼吸器疾患についての線毛機能についての研究は内外でなされているが、マウスなどの疾患モデル、あるいは cell-line を用いた研究が多く、実際のヒト気管支線毛細胞での研究は少ない(文献 2 Ann E.Tilley et al. Cilia Dysfunction in Lung Disease. Annu Rev Physiol. 201 5 ; 77 : 379-406)。本研究により、様々な呼吸器疾患におけるヒト気管支線毛運動の観察、CBF・CBA の測定が体系的に行えるこ

とや、cell-line ではない個々の細胞を用い特徴が得られる(薬物への反応性、薬物の毒性など)ことで個別化医療へと結びつく可能性がある。

また、ヒト気管支線毛細胞の ALI (Air-Liquid Interface) 培養環境を確立させることにより、細胞採取を頻回に行わなくとも安定して薬物負荷の研究が行える。これまで ALI 培養を行っている気管支線毛細胞は、外科的手術時の検体が多く、侵襲度が高かった。気管支内視鏡検査時の検体を用いられるようになれば、より一層侵襲度を小さくすることができる。

これまで、非小細胞肺癌の臨床において、ドセタキセル投与後 7-14 日程度に発熱や肺炎などの合併症が起こることがあり、骨髄抑制による好中球減少症によるものとして治療してきたが、気道感染の他は少ないことに着目した。

個々に対してドセタキセルを用いた際に気管支線毛細胞の線毛運動が活性化されるのか阻害されるのか研究することにより、気道感染に対するバリアが損なわれるのか、追加すべき薬剤があるのかどうか(粘液線毛輸送系が活性化される投薬の効果があるのかどうか)、この基礎研究により、ドセタキセル使用時の臨床に役立てることができる可能性がある。

研究対象者の選定方針

気管支内視鏡生検・擦過検査の適応のある患者(主に肺癌を疑う画像所見の患者、間質性肺炎などのびまん性肺疾患の患者、非結核性抗酸菌などの感染症を疑う患者)を対象とする。20 歳以上の年齢を対象とし、性別は問わない。

研究予定期間

承認日(2019 年 7 月 31 日)から西暦 2021 年 3 月 31 日