

氏名（本籍）	吉田 和史		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9959 号		
学位授与年月	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Elov16 による肺組織内脂肪酸組成の変化がもたらす気管支喘息の重症化機序の解明		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	渋谷 彰
副査	筑波大学教授	医学博士	野牛 宏晃
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	松本 功
副査	筑波大学講師	博士（医学）	沖山奈緒子

論文の内容の要旨

吉田 和史氏の博士学位論文は、気管支喘息の重症化機序における脂肪酸伸長酵素 Elov16 の役割を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

【背景と目的】

著者は、肥満は重症気管支喘息の重要なフェノタイプの一つであるが、これまで肥満と喘息の関連に関しては、脂肪酸の「量」についての議論が中心だったとし、肥満が気管支喘息の発症や重症化に関与する詳細なメカニズムは明らかになっていない点、一方では脂肪酸の「質」や「バランス」に着目した研究はほとんどなされていない点に着目した。著者は、既知の事柄として脂肪酸伸長酵素 Elov16 は炭素数 12-16 の飽和/一価不飽和脂肪酸を特異的に伸長する酵素であり、Elov16 の欠損は組織内の脂肪酸組成を変化させパルミチン酸 (C16:0) やパルミトオレイン酸 (C16:1) が増加し、ステアリン酸 (C18:0) やオレイン酸 (C18:1) などの長鎖脂肪酸が減少すること、Elov16 は様々な疾患との関連が報告され、特にアトピー性皮膚炎患者の皮膚での Elov16 の発現低下の報告によりアレルギー疾患との関連が示唆されていることを挙げたうえで、喘息との関連に関しては検討されていないという点を指摘した。

本研究で著者は、Elov16 による生体内脂肪酸動態の質的变化と喘息の気道炎症の関連を明らかにし、さらに Elov16 が難治性喘息治療の新規ターゲットとなりうるかを明らかにすることを目的とした。

【方法】

著者は、12 週齢、雌の C57BL/6 を背景に持つ野生型 (wild type: WT) マウスと Elov16 欠損 (*Elov16*^{-/-}) マウスで、卵白アルブミン (ovalbumin: OVA) を day 1, day 15 に経皮感作、day 29 に経鼻曝露し実験に使用した喘息モデルマウスを作成した。対照群は生理食塩水で感作、曝露を行い作成した。最終曝露の 48 時間後に検体を採取し実験に用いた。また、著者は、ヒト気道上皮での Elov16 発現を評価するため、国立病院機構霞ヶ浦医療センターで気管支熱形成術を施行された成人の重症喘息患者の気道上皮組

織、健常対照群として筑波大学附属病院で肺癌のために手術を受けた喘息の既往のない成人の気管支組織を含む切片を倫理委員会の承認を得て使用した。

【結果】

初めに著者は、マウスの気道上皮での *Elov16* 発現を評価するため、肺組織の *Elov16* の mRNA 発現を定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (qRT-PCR) と組織の蛍光免疫染色で評価した。*Elov16* は気道上皮で発現が見られ、WT-saline 群に比較して WT-OVA 群で *Elov16* 発現が低下すること、ヒトの気道上皮においても同様に、健常対照群に対し重症喘息患者の気道上皮の *Elov16* 発現は低下することを明らかにしている。次に著者は、WT-OVA 群、*Elov16*^{-/-}-OVA 群の肺組織の脂肪酸組成を評価すると、*Elov16*^{-/-}-OVA 群で組織中のミリスチン酸 (C14:0)、パルミチン酸 (16:0)、パルミトオレイン酸 (C16:1) の割合が増加し、C18 以上の長鎖脂肪酸の割合が減少すること、さらに気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の炎症細胞数で気道炎症を評価すると、*Elov16*^{-/-}-OVA 群は WT-OVA 群に比較し有意に BALF 中の総細胞数、好中球数、好酸球数が増加することを明らかにしている。著者はまた、組織学的解析により、気管支血管束周囲の炎症細胞浸潤と気道上皮の杯細胞の増生を認めること、肺組織中のサイトカインは、*Elov16*^{-/-}-OVA 群で好酸球に関わる IL-5、IL-13、好中球炎症に関わる IL-6、IL-17 の mRNA 発現が増加するが、自然免疫に関与するサイトカイン IL-25、IL-33、TSLP は変化しないことを明らかにした。さらに著者は、BALF から全 549 種類の脂質を抽出し、WT-OVA 群と *Elov16*^{-/-}-OVA 群間で統計学的に有意差を認めた 165 種類の脂質を解析したところ、WT-OVA 群に比較し *Elov16*^{-/-}-OVA 群で BALF 中のセラミドが有意に増加していること、またセラミド合成に抑制的に作用する ORMDL3 の mRNA 発現も *Elov16*^{-/-}-OVA 群で低下し、セラミドの下流代謝産物であるスフィンゴリシン-1-リン酸 (S1P) も BALF 中で増加していることを見出した。最後に著者は、OVA 免疫したマウスにセラミド合成酵素阻害、S1P₁ 受容体阻害作用を持つ FTY 720 を経鼻投与し、WT-OVA 群で BALF 中の好酸球の減少、*Elov16*^{-/-}-OVA 群で BALF 中の総細胞数、リンパ球、好中球数、好酸球数が減少し、気道炎症が改善することを明らかにしている。

【考察】

著者は、喘息モデルマウスの気道で *Elov16* の発現低下が低下したこと、*Elov16*^{-/-}-OVA 群で気道の type 2/non-type 2 炎症が増悪したことから *Elov16* 欠損が喘息の気道炎症形成へ影響を与えることを示した。著者は、セラミドはパルミチン酸を起点として内因性に生合成され、喘息においてアポトーシスの誘導やサイトカイン・ケモカインの産生増強、代謝の下流産物である S1P がセカンドメッセンジャーとして生成され、エフェクター T 細胞の誘導、マスト細胞の脱顆粒の促進などの働きによって気道炎症を増悪させる可能性が報告されている事に触れ、本研究結果結果では、BALF 中の脂質の網羅解析で、*Elov16*^{-/-}-OVA 群の BALF 中のセラミドが増加すること、また FTY 720 による S1P₁ 受容体の阻害により、*Elov16*^{-/-}-OVA 群での気道炎症が改善されることを示したことから、*Elov16* のダウンレギュレーションは、喘息病態において気道内のセラミド合成と S1P 産生を促進することで type 2/non-type 2 気道炎症を増悪させることを示唆した。

審査の結果の要旨

(批評)

吉田和史氏は、本論文において脂肪酸伸長酵素 *Elov16* 量の発現低下が喘息の気道炎症形成へ影響を与えることを初めて明らかにし、これは喘息病態において気道内のセラミド合成と S1P 産生を促進することによることを示唆した。この結果は、脂肪酸と喘息の気道炎症形成との関連を分子レベルで世界で初めて明らかにし、難治性喘息治療の新規ターゲット候補を示した点で学問的、臨床的にきわめて価値が高い。

令和 3 年 1 月 8 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。