

論文概要

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

指導教員 医学医療系 呼吸器内科 檜澤 伸之 教授

所属 筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学 専攻

氏名 吉田 和史

目的: 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、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。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。一方で脂肪酸の「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。本研究では、脂肪酸伸長酵素である Elongation of very long chain fatty acid family member 6 (Elovl6) に注目した。Elovl6 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、Elovl6 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) を増加、ステアリン酸 (C18:0) やオレイン酸 (C18:1) などの長鎖脂肪酸を減少させることが分かっている。また、Elovl6 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 Elovl6 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が、気管支喘息との関連に関しては検討されていない。今回我々は Elovl6 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 Elovl6 が難治性喘息治療の新規ターゲットとなりうるか明らかにすることを目的として研究計画を立案、実施した。

対象と方法: 実験に使用したマウスは、12 週齢、雌の C57BL/6 を背景に持つ野生型 (wild type: WT) マウスと Elovl6 欠損 (*Elovl6*^{-/-}) 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、ヒト気道上皮での Elovl6 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、マウスの気道上皮での Elovl6 発現を評価するため、肺組織の Elovl6 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。Elovl6 は気道上皮で発現が見られ、WT-saline 群に比較して WT-OVA 群で Elovl6 発現が低下していた。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 Elovl6 の発現は低下していた。次に 4 週齢から 12 週齢 WT、*Elovl6*^{-/-} マウスの体重測定を行い、通常食飼育下での体重増加に両群差はなく、今回の実験系に肥満の影響はないことを確認した。WT-OVA 群、*Elovl6*^{-/-}-OVA 群の肺組織の脂肪酸組成を評価すると、*Elovl6*^{-/-}-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 以降の長鎖脂肪酸の割合が減少した。

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、*Elovl6*^{-/-}-OVA 群は WT-OVA 群に比較し有意に BALF 中の総細胞数、好中球数、好酸球数が増加した。組織学的には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た。肺組織中のサイトカインは、*Elovl6*^{-/-}-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 発現が増加していた。自然免疫に関与するサイトカインは変化せず、血清 OVA 特異的 IgE は著明に増加した。気道過敏性に関しては両群で差はなかった。

次に BALF 中の脂質の網羅的解析を行った。BALF から全 549 種類の脂質を抽出し、WT-OVA 群と *Elovl6*^{-/-}-OVA 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 *Elovl6*^{-/-}-OVA 群で BALF 中のセラミド量が有意に増加していることが見出された。またセラミド合成に抑制的に作用する ORMDL3 の mRNA 発現も *Elovl6*^{-/-}-OVA 群で低下していた。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 中で増加していた。OVA 免疫したマウスに FTY 720 を経鼻投与したところ、WT-OVA 群で BALF 中の好酸球の減少、*Elovl6*^{-/-}-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、気道炎症が改善した。

考察: 喘息モデルマウスの気道で *Elovl6* の発現低下が低下したこと、*Elovl6*^{-/-}-OVA 群で気道の type 2/non-type 2 炎症が増悪したことから、*Elovl6* の欠損が喘息へ影響を与えることが示唆された。BALF 中の脂質の網羅解析で、*Elovl6*^{-/-}-OVA 群の BALF 中のセラミドが増加していた。喘息における気道のセラミドに関しては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。今回 FTY 720 による S1P₁ 受容体のブロックにより、*Elovl6*^{-/-}-OVA 群での気道炎症が改善されることが示された。

結論: *Elovl6* 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 産生を促進し、type 2/non-type 2 気道炎症を増悪させることが明らかとなった。*Elovl6* は重症喘息における新規治療ターゲットとなりうる可能性が示唆された。