

氏名	いとう たつり 伊藤 辰徳
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	2022年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	喘息動物モデルにおけるオキシステロールの役割
論文審査委員	主査 教授 杉浦 久敏 教授 香取 幸夫 教授 黒澤 一

論文内容要旨

学籍番号：B8MD5014

氏名：伊藤 辰徳

本文：

背景と目的：気管支喘息は変動性をもった気道狭窄や咳で特徴づけられる慢性気道疾患であり、好酸球を中心とした2型気道炎症が主要な病態の一つである。しかし他にも様々な細胞や分子が複雑に病態に関与しており、非2型炎症が主体となるフェノタイプも喘息の半数近くに存在し、喘息の病態には未だに不明な点が多く、新たな分子基盤の同定や理解が必要である。sterol 27-hydroxylase (CYP27A1) に由来する 27-Hydroxycholesterol (27-HC) は、炎症促進の生物学的活性を持ち、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) における酸化ストレスや慢性炎症と関連していることが報告されているが、喘息病態における CYP27A1 および 27-HC の役割は不明である。本研究では、喘息の病態生理における CYP27A1 および 27-HC の役割を明らかにすることを目的とした。

方法：コナヒョウダニ抽出物 (House dust mite extract: HDM) を C57BL/6 マウスに経鼻投与し、気道における CYP27A1 の発現および局在を免疫染色法により解析した。また、喘息モデルマウスに CYP27A1 阻害薬を投与し、気道炎症および気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid: BALf) の細胞分画に及ぼす影響を検討した。さらに、27-HC が喘息の病態生理に果たす役割を明らかにするために、喘息モデルマウスに 27-HC を経鼻投与し、気道炎症と BALf の細胞分画を評価した。In vitro で、ヒト単球由来細胞株 (THP-1 細胞) を phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) で刺激して得たマクロファージ様細胞に HDM を投与し、CYP27A1 の発現を評価した。また、HDM 受容体の阻害薬を投与し、HDM が CYP27A1 を誘導する機序を検討した。HDM で誘導された CYP27A1 が産生する 27-HC が喘息の病態生理に果たす役割を明らかにするために、気道上皮細胞株 (BEAS-2B 細胞) に 27-HC を投与し、好酸球性ケモカイン、窒素化ストレス関連分子、タイトジャンクション蛋白の発現について検討した。

結果：喘息モデルマウスでは、気道上皮細胞およびマクロファージにおいて CYP27A1 の発現が上昇していた。CYP27A1 阻害作用を持つ Ca 拮抗薬やアロマターゼ阻害薬を喘息モデルマウスに投与すると、マクロファージおよび気道上皮細胞における CYP27A1 の発現および BALf 中の 27-HC の産生が抑制され、HDM により誘導された気道炎症は有意に改善した。また、HDM は、BALf 中の総細胞数、好中球数、好酸球数、リンパ球数を有意に増加させたが、CYP27A1 阻害薬により有意に抑制された。一方、喘息モデルマウスへの 27-HC の経鼻投与は、気道炎症をさらに悪化させ、BALf 中の好酸球数、好中球数およびインターロイキン (interleukin: IL)-5 の濃度を上昇させた。in vitro

(書式 1 2)

で、HDM はマクロファージ様細胞の CYP27A1 の発現を誘導した。その発現は protease-activated receptor (PAR) 2 阻害薬の投与で抑制されたが、Toll-like receptor (TLR) 4 阻害薬の投与では抑制されなかった。BEAS-2B 細胞に 27-HC を投与すると、好酸球性ケモカイン、窒素化ストレス関連因子の発現は上昇し、タイトジャンクションタンパク質の発現は低下した。

結論：本研究では、喘息モデルマウスを用いて、喘息の病態生理における CYP27A1 および 27-HC の新たな役割を明らかにした。CYP27A1 を阻害して 27-HC の産生を抑制すると、HDM 誘発喘息モデルマウスで気道炎症が有意に抑制されたことから、CYP27A1 の薬理的阻害は重症喘息に対する有望な戦略となる可能性があると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目喘息動物モデルにおけるオキシステロールの役割.....

所属専攻・分野名医科学 専攻呼吸器内科学分野.....

学籍番号B8MD5014.....氏名伊藤 辰徳.....

背景と目的：気管支喘息は変動性をもった気道狭窄や咳で特徴づけられる慢性気道疾患であり、好酸球を中心とした2型気道炎症が主要な病態の一つである。しかし他にも様々な細胞や分子が複雑に病態に関与しており、非2型炎症が主体となるフェノタイプも喘息の半数近くに存在し、喘息の病態には未だに不明な点が多く、新たな分子基盤の同定や理解が必要である。sterol 27-hydroxylase (CYP27A1) に由来する27-Hydroxycholesterol (27-HC) は、炎症促進の生物学的活性を持ち、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) における酸化ストレスや慢性炎症と関連していることが報告されているが、喘息病態における27-HCの役割は不明である。本研究では、喘息の病態生理における27-HCの役割を明らかにすることを目的とした。

方法：コナヒョウダニ抽出物 (House dust mite extract: HDM) をC57BL/6マウスに経鼻投与し、気道におけるCYP27A1の発現および局在を免疫染色法により解析した。また、喘息モデルマウスにCYP27A1阻害薬を投与し、気道炎症および気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid: BALf) の細胞分画に及ぼす影響を検討した。さらに、27-HCが喘息の病態生理に果たす役割を明らかにするために、喘息モデルマウスに27-HCを経鼻投与し、気道炎症とBALfの細胞分画を評価した。In vitroで、ヒト単球由来細胞株 (THP-1細胞) をphorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) で刺激して得たマクロファージ様細胞にHDMを投与し、CYP27A1の発現を評価した。また、HDM受容体の阻害薬を投与し、HDMがCYP27A1を誘導する機序を検討した。HDMで誘導されたCYP27A1が産生する27-HCが喘息の病態生理に果たす役割を明らかにするために、気道上皮細胞株 (BEAS-2B細胞) に27-HCを投与し、好酸球性ケモカイン、窒素化ストレス関連分子、タイトジャンクション蛋白の発現について検討した。

結果：喘息モデルマウスでは、気道上皮細胞およびマクロファージにおいてCYP27A1の発現が上昇していた。CYP27A1阻害作用を持つCa拮抗薬やアロマトラーゼ阻害薬を喘息モデルマウスに投与すると、マクロファージおよび気道上皮細胞におけるCYP27A1の発現およびBALf中の27-HCの産生が抑制され、HDMにより誘導された気道炎症は有意に改善した。また、HDMは、BALf中の総細胞数、好中球数、好酸球数、リンパ球数を有意に増加させたが、CYP27A1阻害薬により有意に抑制された。一方、喘息モデルマウスへの27-HCの経鼻投与は、気道炎症をさらに悪化させ、BALf中の好酸球数、好中球数およびインターロイキン

(interleukin: IL) -5 の濃度を上昇させた。in vitro で、HDM はマクロファージ様細胞の CYP27A1 の発現を誘導した。その発現は protease-activated receptor (PAR) 2 阻害薬の投与で抑制されたが、Toll-like receptor (TLR) 4 阻害薬の投与では抑制されなかった。BEAS-2B 細胞に 27-HC を投与すると、好酸球性ケモカイン、窒素化ストレス関連因子の発現は上昇し、タイトジャンクションタンパク質の発現は低下した。

結論：本研究では、喘息モデルマウスを用いて、喘息の病態生理における CYP27A1 および 27-HC の新たな役割を明らかにした。27-HC は、好酸球性炎症だけでなく、ステロイド不応性喘息の重要な因子である好中球性炎症にも寄与している可能性が示唆された。CYP27A1 を阻害すると、HDM 誘発性気道炎症が有意に抑制されたことから、CYP27A1 の薬理的阻害は重症喘息に対する有望な戦略になり得ると考えられた。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。