

学術交流・研究推進プロジェクト 成果報告書

研究代表者 所属 病態生化学研究室

職・氏名 助教・前原都有子

研究テーマ：

急性肺炎におけるプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の機能解析

研究期間：

2018 年 4 月 1 日 ～ 2020 年 3 月 31 日

研究担当者：

<本学>

研究代表者 前原 都有子 (大阪薬科大学・薬学部・助教)

研究目的：

肺炎は日本人の死因第 3 位であり、その中でも誤嚥や敗血症によって発症する急性肺炎は、死亡率が約 40% と大変高いが、有効な治療法は確立されていない。近年、脂質メディエーターの一つである $PGF_{2\alpha}$ が、炎症部位、組織で多く産生されており、炎症制御に関与している可能性が示唆された。また、肺炎患者の肺組織において $PGF_{2\alpha}$ の産生量が増加していることが報告されているが、その機能は分かっていない。誤嚥性肺炎のモデルである塩酸誘導性肺炎マウスおよび感染性肺炎モデルであるリポ多糖誘導性肺炎マウスの肺組織において、 $PGF_{2\alpha}$ の産生量が増加した。さらに、 $PGF_{2\alpha}$ の受容体阻害剤を投与せずに肺炎を誘導したマウスと比較し、 $PGF_{2\alpha}$ の受容体阻害剤を投与して肺炎を誘導したマウスでは、肺組織への好中球浸潤および浮腫を伴って急性肺炎が悪化することを発見した。本研究では、 $PGF_{2\alpha}$ による肺炎の抑制機構を解明し、急性肺炎の治療戦略のための新たな標的分子を提供することを目的とする。

研究内容および研究成果：

① $PGF_{2\alpha}$ が肺炎に与える影響の検討

野生型マウスを用いて、誤嚥性肺炎モデルとして塩酸 (0.1 N, 2 ml/kg) を気管内投与し、感染性肺炎モデルとしてリポ多糖 (LPS; 3.75 mg/kg) を経鼻投与することで肺炎モデルマウスを作製した。塩酸および LPS を投与することで、気管支肺胞洗浄液中の $PGF_{2\alpha}$ の産生量が顕著に増加した。また、 $PGF_{2\alpha}$ の受容体阻害剤を投与せずに塩酸または LPS を投与したマウスと比較し、 $PGF_{2\alpha}$ の受容体阻害剤を投与して塩酸または LPS を投与したマウスでは、肺組織への好中球の浸潤促進が観察された (図 1)。さらに、肺組織において炎症性サイトカインである tumor necrosis factor (TNF)- α 、interleukin (IL)-6 の遺伝子発現量が顕著に増加した。これらの結果から、 $PGF_{2\alpha}$ の受容体を阻害すると肺炎が悪化することが示唆された。

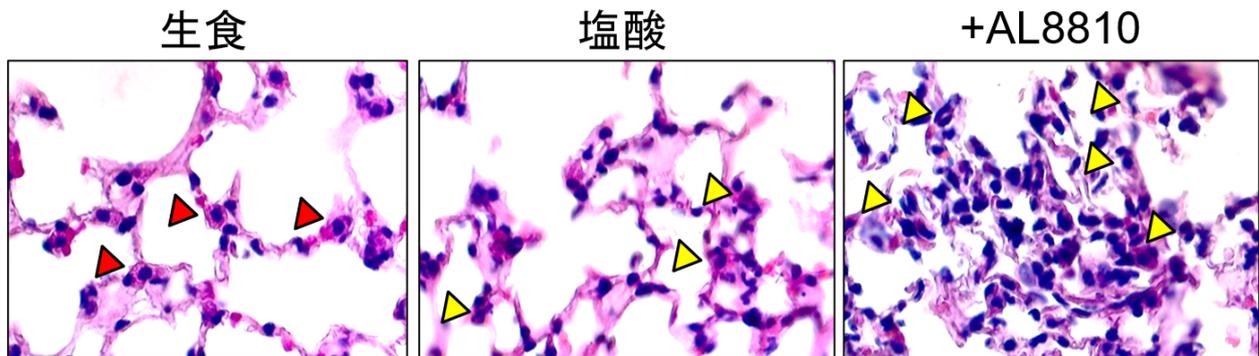


図 1、肺の HE 染色像（赤矢頭：マクロファージ、黄矢頭：好中球）

② PGF_{2α} による肺炎の悪化機序解明

マクロファージには炎症を促進させる M1 型マクロファージと、抗炎症性に働く M2 型マクロファージが存在する。肺炎において、M1 型マクロファージの増加が、炎症を促進させることが知られている。そこで、次にマウスマクロファージ細胞株である RAW264.7 細胞を用いて、PGF_{2α} の受容体の阻害が M1 型マクロファージの分化に与える影響を検討した。RAW264.7 細胞に LPS (100 ng/ml) と IFN-γ (10 ng/ml) を処理することで M1 型マクロファージへの分化を誘導した。PGF_{2α} の受容体阻害剤である AL8810 (3 μM) は、LPS と IFN-γ を処理する 30 分前に処理した。LPS と IFN-γ を処理すると、M1 型マクロファージのマーカである iNOS、TNF-α、CD11c の遺伝子発現量が顕著に増加した (図 2)。さらに AL8810 を前処理するとこれらの遺伝子発現量がさらに上昇した。この結果から、PGF_{2α} の受容体阻害は、M1 型マクロファージの分化を促進させることが示唆された。

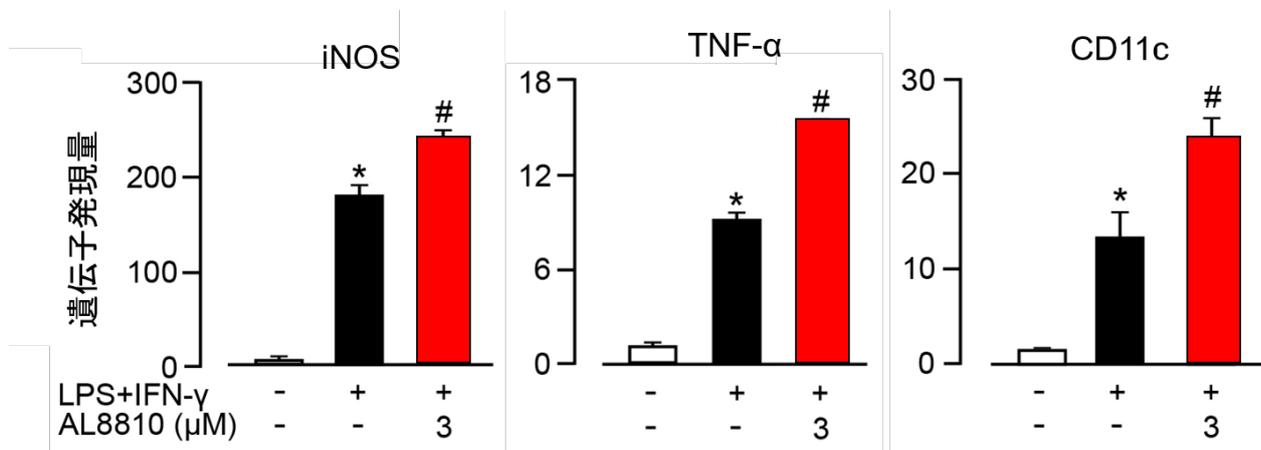


図 2、M1 型マクロファージマーカー遺伝子発現量変化

NF-κB の活性化が M1 型マクロファージの分化を促進させることが知られている。次に、PGF_{2α} の受容体を阻害することで NF-κB の活性化に与える影響を検討するために、NF-κB の蛍光免疫化学染色を行った。LPS と IFN-γ を処理すると、NF-κB の核内移行、活性化が促進された (図 3)。AL8810 を前処理すると NF-κB のさらなる活性化が観察された。これらは IκB の阻害剤である SC-514 を処理することで抑制された。さらに、SC-514 の処理は、AL8810 により引き起こされた M1 型マクロファージマーカーの遺伝子発現上昇を抑制した。これらの結果から、AL8810 は NF-κB の活性化を促進させることで M1 型マクロファージの分化を促進させることが示唆された。

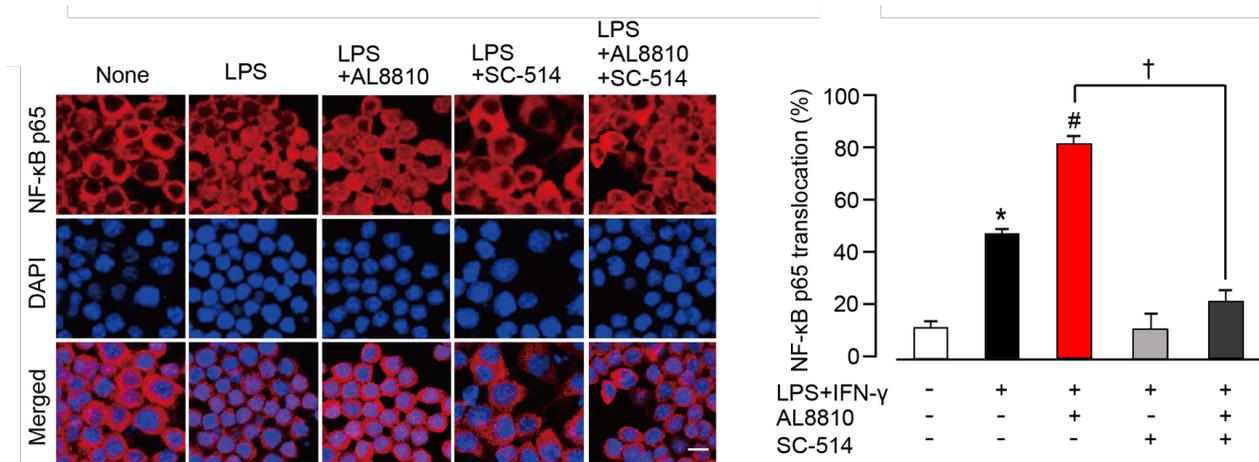


図 3、NF-κB の蛍光免疫化学染色および定量図

以上の結果から $\text{PGF}_{2\alpha}$ は肺炎の抑制因子であることが明らかとなった。その機序として、マクロファージ上に発現している $\text{PGF}_{2\alpha}$ 受容体を阻害すると、NF-κB の活性化が促進され、M1 型マクロファージの分化が促進される。そのため、炎症性サイトカインの遺伝子発現量が上昇し、肺の炎症が悪化することが示唆された。本研究の成果は、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ のシグナルの制御が、急性肺炎の治療戦略のための新たな標的分子となる可能性を示したものである。

成果発表：

<原著論文>

- Contribution of FP receptors in M1 macrophage polarization via IL-10-regulated nuclear translocation of NF-κB p65., Maehara, T., Fujimori, K. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids.*, 1865: 158654, 2020

<学会発表>

- 「プロスタグランジン $\text{F}_{2\alpha}$ 受容体の阻害は急性肺障害を悪化させる」、前原 都有子、藤森 功
 日本薬学会 第 140 年会 2020.3.25-28
- 「プロスタグランジン $\text{F}_{2\alpha}$ による急性肺障害の制御機構」前原都有子、藤森 功
 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 2019.10.2
- 「プロスタグランジン $\text{F}_{2\alpha}$ は肺炎の悪化を制御する」前原都有子、藤森 功
 第 66 回日本生化学会近畿支部例会 2019.5.25
- 「急性肺炎におけるプロスタグランジン $\text{F}_{2\alpha}$ の機能解析」前原都有子、藤森 功
 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 2018.10.13