

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 _____
職・氏名 助教 前原 都有子 _____

研究テーマ：

新規重症喘息マウスモデルの確立

研究期間：

2021 年 4 月 1 日 ～ 2023 年 3 月 31 日

研究担当者：

<本学>

研究代表者 前原都有子（大阪医科薬科大学・薬学部・助教）

研究目的：

喘息は、ダニやほこりなどの抗原による刺激によっておこる気道の過敏症と狭窄を特徴とする、気管支の慢性アレルギー性疾患である。喘息の治療薬として気管支拡張薬や抗炎症薬であるステロイドの他に、抗 IgE 抗体やサイトカイン阻害剤などが用いられているが、既存の治療薬で効果を示さない、重症喘息による死亡者数は依然として多い。卵白アルブミンやハウスダストなどを反復的に経鼻投与または噴霧して作製する喘息モデルマウスが広く用いられているが、これらの既存のモデルマウスでは、重症喘息患者と同様な炎症（Th1/Th2/Th17 混合型）および病学的（好中球の浸潤）な特徴は得られず、適切なマウスモデルが存在しないため、病態解明および治療薬の開発が進んでいない。本研究ではこれまでになかった新規重症喘息マウスモデルを確立することを目的とした。

研究内容および研究成果：

5-7 週齢の C57/BL6J の雌マウスを用いて、抗原である卵白アルブミン（OVA）を 100 μ g およびアジュバンドである Aluminum, 1 mg を 0 日目と 7 日目に腹腔内に投与することで感作を行った。14 日目から 3 日おきに 15 回、100 μ g の OVA を経鼻投与することで喘息モデルを作製した。重症喘息モデルは、14 日目から 3 日おきに 15 回、100 μ g の OVA を経鼻投与すると同時に 14 日目から、PG 受容体作動薬を連日腹腔内に投与することで作製した。15 回目の OVA 投与 24 時間後に剖検を行い、肺組織を用いてヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色を施し組織形態学的解析を、リアルタイム PCR を行うことで炎症の評価を行った。まず、血清中の OVA 特異的 IgE 産生量を測定したところ、naïve のマウスに比較して OVA を投与したマウスでは IgE の産生増加が認められたが、prostaglandin (PG) 受容体作動薬を投与していないマウスおよび PG 受容体作動薬を投与したマウスで、IgE 産生量に差はみられなかった。PG 受容体の作動薬を投与していないマウスでは、肺組織への好酸球やリンパ球を主体とする免疫細胞の浸潤が観察された（図 1）。さらに、好中球の浸潤も散見された。一方で PG 受容体作動薬を投与したマウスでは、好中球主体の細胞浸潤が促進していた

が、好酸球はほとんど観察されなかった。さらに、PG 受容体作動薬を投与していないマウスに比較し、活性化したマクロファージの増加や粘液産生の促進が観察された。以上の結果より、PG 受容体作動薬を投与すると、ヒトの重症喘息患者の病理組織学的な特徴と同様な組織像が観察されることが示唆された。

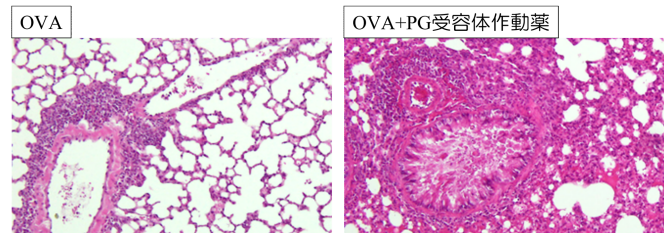


図 1:OVA 投与後の肺の H&E 染色像

次に肺組織を用いて、Th1/Th2/Th17 型の

メディエーターの遺伝子発現レベルを、リアルタイム PCR を用いて測定することで、PG 受容体作動薬の投与が炎症に与える影響を検討した。Th1 型のメディエーターである tumor necrosis factor- α 、Interferon- γ および Th17 型サイトカインである Interleukin (IL) -17 の遺伝子発現レベルは PG 受容体作動薬を投与していないマウスに比較し、PG 受容体作動薬を投与したマウスで増加していた。一方で PG 受容体作動薬を投与していないマウスと PG 受容体作動薬を投与したマウスで Th2 型サイトカインである IL-4、IL-5 の遺伝子発現レベルに差はみられなかった。これらの結果より、PG 受容体作動薬を投与したマウスでは、ヒトの重症喘息患者の特徴である、肺組織への好中球浸潤および、Th1、Th17 型の炎症が促進していることが示唆された。本研究で用いた喘息モデルが、ヒトの重症喘息患者のモデルとなりうるのか、肺機能の評価やステロイド耐性などさらなる検討が必要である。

成果発表：

<原著論文>

・ Leukotriene C₄ synthase is a novel PPAR γ target gene, and leukotriene C₄ and D₄ activate adipogenesis through cysteinyl LT₁ receptors in adipocytes. Fujimori K., Uno S., Kuroda K., Matsumoto M., Maehara T., *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.*, 1869: 119203 (2022).