

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16177

研究課題名（和文）難治性肥満喘息における酸化LDLを介した制御機構の解明

研究課題名（英文）The regulatory mechanism via oxidized LDL in obesity-related asthma

研究代表者

持丸 貴生（Mochimaru, Takao）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・共同研究員

研究者番号：60594570

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：肥満は喘息の難治化因子であり、治療薬の吸入ステロイド薬の治療抵抗性の原因となる。肥満では高頻度に低比重リポタンパク質（LDL）が高値となる脂質異常症が併存するが、LDLのアレルギー疾患、特に喘息における病的意義は解明されていない。本研究では、酸化LDLのヒト好酸球に対する直接作用を検討し、酸化LDLは好酸球の接着応答を促進し、活性化とともに生存を延長させることを示した。続いてIL-33とTNF- $\alpha$ の刺激によって、ヒト好酸球の酸化LDLの受容体であるLOX-1の発現が増加することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息は慢性気道炎症によるアレルギー疾患であり、肥満は喘息の難治化因子として知られている。本研究では、肥満に高度に合併する脂質異常症に注目し、酸化LDLによる好酸球への影響を検討した。本研究結果により、難治性である肥満喘息への新たな治療戦略への一助となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Obesity is a factor that makes asthma difficult to treat, and causes resistance to inhaled steroids. Obesity frequently coexists with dyslipidemia, which results in high levels of low-density lipoprotein (LDL), but the pathological significance of LDL in allergic diseases, especially asthma, has not been elucidated. In this study, we investigated the direct effect of oxidized LDL on human eosinophils and showed that oxidized LDL promotes the adhesion response of eosinophils and activates and prolongs their survival. We demonstrated that stimulation with IL-33 and TNF- $\alpha$  increases the expression of LOX-1, a receptor for oxidized LDL, in human eosinophils.

研究分野：asthma

キーワード：肥満喘息 酸化LDL 好酸球

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

喘息は慢性気道炎症によるアレルギー疾患であり、様々なフェノタイプが包含された疾患である。肥満は喘息の難治化因子の1つとして知られているが、その病態メカニズムはまだ不明な点が多く、吸入ステロイドを中心とした既存の治療薬に抵抗性であることが多い。また、肥満喘息に対する特異的な薬物治療法の開発は進んでいない。

肥満では高頻度に低比重リポ蛋白(LDL)が高値となる脂質異常症が併存する。活性酸素により酸化されたLDLは血管内皮障害や動脈硬化への関与が報告されているが、酸化LDLのアレルギー疾患、特に喘息における病的意義は解明されていない。

本研究課題では酸化LDLとその受容体であるLOX-1の経路がどのように喘息において影響しているかを検討することで、難治性喘息である肥満喘息の病態解明を目指す。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、気管支喘息の気道炎症において主たる炎症細胞である好酸球への酸化LDLの影響を検討することで、気管支喘息、特に肥満喘息における酸化LDL/LOX-1経路がもたらす効果を検証することである。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒト好酸球に対する酸化LDLの効果の検討

健康成人末梢血から磁性標識抗体(CD2, CD14, CD16, CD19, CD56, CD123, CD235a)を用いたMACSにより好酸球を単離し、酸化LDLを含む各種刺激下(IL-5, IL-33, TNF-alpha)での表面抗原、生存率についてフローサイトメトリーを用いて評価した。

#### (2) ヒト好酸球を用いたRNAシーケンス、プロテオーム

健康成人末梢血から磁性標識抗体(CD2, CD14, CD16, CD19, CD56, CD123, CD235a)を用いたMACSにより好酸球を単離し、酸化LDLを含む各種刺激(IL-5, IL-33, TNF-alpha)後、RNA、蛋白の抽出を行い、それぞれトランスクリプトーム、プロテオームに供した。

#### (3) 慢性好酸球性副鼻腔炎における酸化LDL/LOX-1経路の検討

本研究室が保持する慢性好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸から単離した好酸球を用いたRNAシーケンスのデータベースを用いて、酸化LDL/LOX-1経路に関わる因子を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒト好酸球に対する酸化LDLの効果の検討

酸化LDLは好酸球の刺激30分後のCD11b発現上昇とCD62Lの発現低下を誘導した。24時間培養時点における生存能でも、酸化LDLがPI陽性の好酸球の割合を減少させており、生存能を延長させることが確認できた。24時間培養時点で好酸球の活性化マーカーであるCD69発現を評価すると、IL-5と酸化LDLの共刺激がCD69発現の相乗的な上昇を誘導することが確認できた。以上から、酸化LDLは好酸球の接着応答を促進し、活性化とともに生存を延長させることを示した。

#### (2) ヒト好酸球を用いたRNAシーケンス、プロテオーム

好酸球をIL-33、TNF-alpha、IL-5で刺激し、RNAシーケンスで網羅的な遺伝子発現を検討した。その結果、IL-5の刺激ではなくIL-33とTNF-alphaの刺激によって、LOX-1の発現が上昇することが確認された。蛋白レベルでの発現もフローサイトメトリーによって検討し、TNF-alpha刺激によってIL-5の存在下で発現が増加することが確認された。以上から、ヒト好酸球において、喘息における重要なサイトカインであるIL-5、IL-33、TNF-alpha刺激でLOX-1発現が亢進することを示した。

#### (3) 慢性好酸球性副鼻腔炎における酸化LDL/LOX-1経路の検討

LOX-1の発現量は健康者の血中好酸球と比較して、慢性好酸球性副鼻腔炎の鼻茸の好酸球で著しく発現が増加していた。この発現上昇はIL-33とTNF-alphaで発現上昇が認められる遺伝子群の発現と正の相関を示しており、LOX-1の発現が疾患においてもIL-33とTNF-alphaによって誘導されている可能性が示唆された。

#### (4) 今後の展望

本研究により、酸化LDLの好酸球への直接的な効果が明らかになり、好酸球において酸化LDL受容体であるLOX-1を誘導する因子も同定された。好酸球性副鼻腔炎患者の炎症局所である鼻茸の好酸球においても発現亢進していることから、気管支喘息患者においてもLOX-1高発現の好酸球が存在する可能性がある。肥満喘息では脂質異常症が高頻度に合併しており、肥満喘息患者の好酸球では酸化LDL/LOX-1経路の刺激が亢進することが病態に関与している可能性が示唆された。今後は、酸化LDL/LOX-1経路の抑制による影響をin vitro、in vivoで検証するとともに、これらの結果を論文投稿予定である。さらに、気管支喘息、特に肥満喘息患者の好酸球において酸化LDL/LOX-1経路の影響を検討していくことで、肥満喘息

患者の病態メカニズムの解明、また新たな治療ターゲットとしての酸化 LDL/LOX-1 経路の重要性が見出されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 持丸貴生
2. 発表標題 酸化低比重リポ蛋白質 (oxidized LDL) の好酸球に対する直接作用の検討
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------