

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15456

研究課題名(和文) II型肺胞上皮細胞の脂肪酸組成変化による肺線維化発症機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of pulmonary fibrosis induced by deranged fatty acid composition

研究代表者

倉林 正彦 (Kurabayashi, Masahiko)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00215047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、II型肺胞上皮細胞におけるElovl6の機能を明らかにする研究を行った。Elovl6欠損マウスの肺における脂質組成として、飽和脂肪酸であるパルミチン酸の増加、一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸の著明な減少を認めた。さらに、野生型マウスにプレオマイシンを投与した肺線維症モデルマウスの肺では、Elovl6の発現低下のみならず、脂肪酸の不飽和化に關与するSCDやFADSの発現も著明に減弱し、肺における脂肪酸分画もElovl6欠損マウスに近い組成を示した。したがって、飽和・不飽和脂肪酸のバランスが肺の構造と機能維持に深く関わっていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we demonstrated that the lack of Elovl6 has a causative role in lung pathology. Apoptosis and ROS production were increased in Elovl6<sup>-/-</sup> lung. Alveolar type II epithelial cells isolated from Elovl6<sup>-/-</sup> mice and LA-4 cells produced increased levels of ROS. Elovl6 deficiency increased PA and decreased OA and PUFA content in alveolar type II epithelial cells both in vivo and in vitro. Expressions of the genes for FADS1, FADS2, FATPs and FAT/CD36 were significantly reduced in Elovl6<sup>-/-</sup> mice, suggesting that cellular uptake of long-chain FAs, including PUFA, was impaired in Elovl6<sup>-/-</sup> mice.

研究分野：循環器内科学

キーワード：脂肪酸 サーフアクトン 線維化 肺気腫 飽和脂肪酸

## 1. 研究開始当初の背景

正常な肺機能を維持するのに重要な界面活性物質である肺サーファクタントは、約9割が脂質、残りの1割がタンパク質で構成され、特に脂質の元になるのが遊離脂肪酸である。この肺サーファクタントの合成・機能異常により、肺線維症や肺気腫を呈することが報告されているが、これまで肺サーファクタントに関してはタンパク質と病態との関わりを中心に研究が進んでおり、脂質に関してはほとんど研究されてこなかった。申請者らはこれまで、遊離脂肪酸分画(飽和、一価不飽和、多価不飽和脂肪酸)の組成と、その組成を調節する酵素として、細胞内に取り込まれた飽和・不飽和脂肪酸の脂肪酸鎖長を伸長させる役割を持つ **Elongation of long-chain fatty acids family member 6 (Elovl6)** の病態意義に関して研究を行ってきた。我々の研究成果から、肺におけるサーファクタント合成場所である II 型肺胞上皮細胞において **Elovl6** が強く発現すること、特発性肺線維症患者ではこの **Elovl6** の発現が著明に減弱していること、また **Elovl6** 欠損マウスにブレオマイシン気管内投与を行うと、野生型マウスに比べて著明な肺線維症の悪化を呈することを明らかにした。さらに、このマウスの肺では飽和脂肪酸であるパルミチン酸が過剰に増加し、不飽和脂肪酸であるオレイン酸が減少しており、この脂肪酸分画の変化が酸化ストレスやアポトーシスを誘導することで肺線維症の増悪に関与していることを明らかにした (Sunaga *et al. Nat. Commun.* 2013)。これらの結果は、**Elovl6** によって調節される脂肪酸分画が肺胞構造の恒常性維持に必須な役割をもつことを示している。しかし、これまで、脂肪酸組成と肺構造の維持についての報告は全くない。

## 2. 研究の目的

**Elovl6** による脂肪酸組成の調節の病態生理的役割を明らかにする。そして肺気腫および肺

線維症発症における **Elovl6** の役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) **Elovl6** 欠損マウスにおける肺胞構造を解析する。

(2) **Elovl6** 欠損マウスにおける肺組織における脂肪酸組成を明らかにする。増殖や分化に関係する遺伝子の発現を解析する。

(3) 慢性の喫煙モデルを作製し、喫煙 2 か月、6 か月における **Elovl6** 欠損マウスの肺の変化を野生型のそれと比較する。

(4) また、このモデルでの肺における脂肪酸組成を分析する。

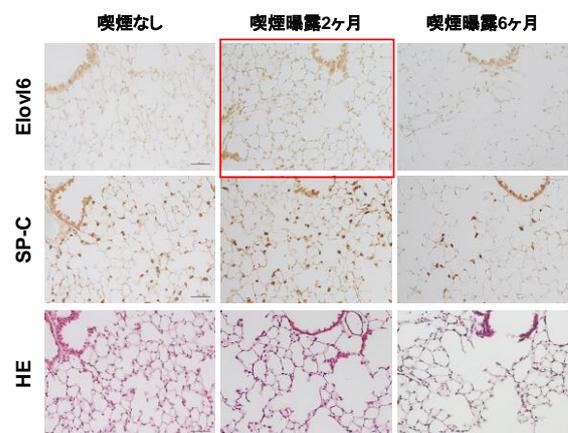
(5) 培養 II 型肺胞上皮細胞において siRNA を用いて **Elovl6** をノックダウンさせ、増殖や分化に関係する遺伝子の発現を明らかにする。

## 4. 研究成果

### (1) 喫煙モデルの作製

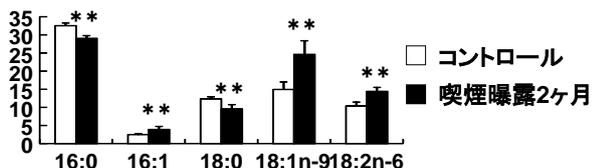
**Elovl6** 欠損マウスの肺組織では肺胞径の著明な拡大や弾性線維の破壊を認め、肺気腫を自然発症していることが明らかになった。

(2) 喫煙曝露 2 ヶ月の肺組織では、II 型肺胞上皮細胞における **Elovl6** の明らかな発現増加が認められた。

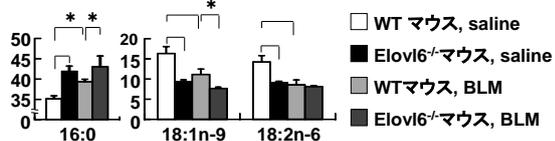


(3) 野生型マウスに 2 ヶ月喫煙曝露すると、**Elovl6** の発現が増加し、パルミチン酸分画の

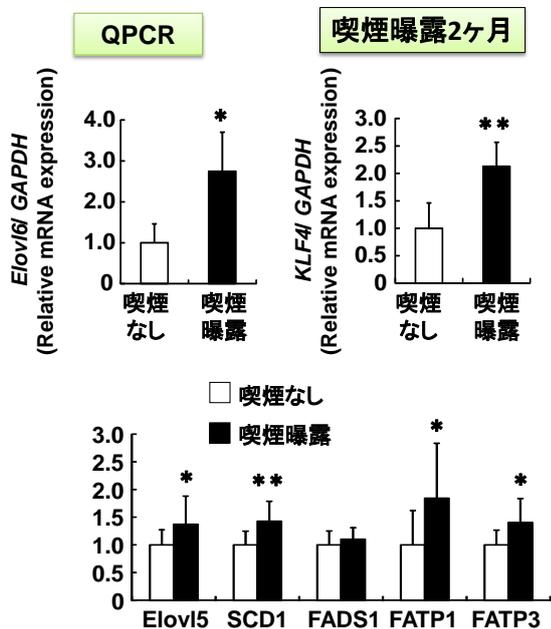
減少およびオレイン酸分画の増加が認められた。



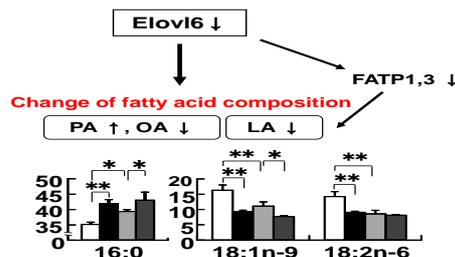
(4) 野生型マウスに BLM を投与すると、Elovl6 の発現が低下し、Elovl6 欠損マウス類似の脂肪酸分画の変化を認めた。



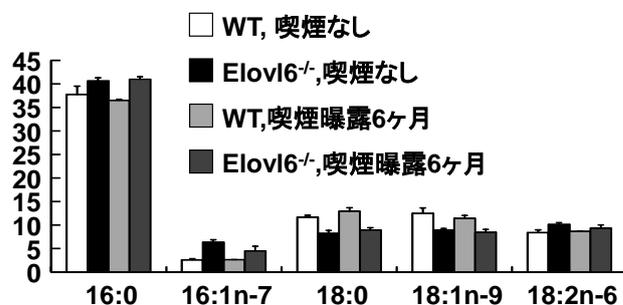
(5) 2ヶ月喫煙曝露した野生型マウスの肺において、Elovl6、KLF4、Elovl5、SCD1 および FATP1 の発現が上昇していた。



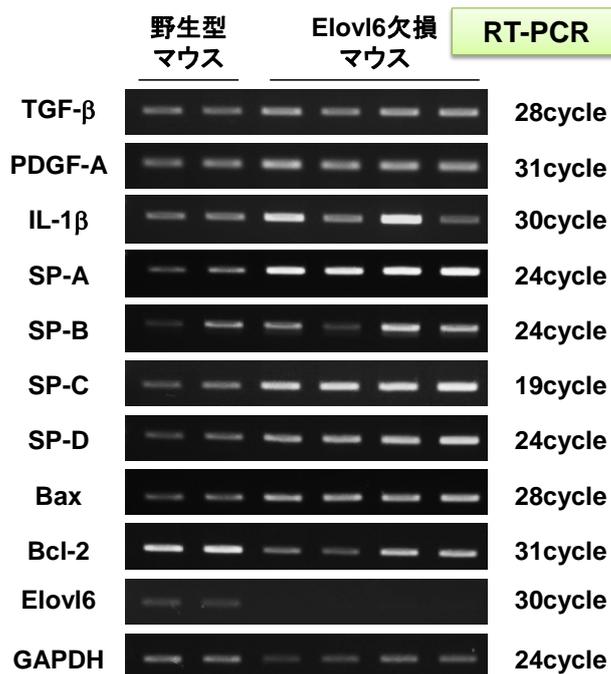
(6) Elovl6 欠損マウス及び BLM 投与した WT マウスの肺において、FATP1, FATP3 の発現が減少し、リノール酸の変化に寄与していると考えられた。



(7) 野生型マウスに 6ヶ月喫煙曝露すると、Elovl6 の発現に変化はなく、いずれの脂肪酸分画においても両群間に有意な差は認められなかった。



(8) Elovl6 欠損マウス肺組織において、肺サーファクタントプロテイン A-D の発現が上昇した。



<引用文献>

①Sunaga H, Matsui H, Ueno M, Maeno T, Iso T, Syamsunarno MR, Anjo S, Matsuzaka T, Shimano H, Yokoyama T, **Kurabayashi M.** Deranged fatty acid composition causes pulmonary fibrosis in Elovl6-deficient mice. *Nat Commun.* 2013;4:2563. doi: 10.1038/ncomms3563

②Ueno M, Maeno T, Nishimura S, Ogata F, Masubuchi H, Hara K, Yamaguchi K, Aoki F, Suga T, Nagai R, **Kurabayashi M.** Alendronate inhalation ameliorates elastase-induced pulmonary emphysema in mice by induction of apoptosis of alveolar macrophages. *Nat Commun.* 2015;6:6332 doi: 10.1038/ncomms7332

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

① Umbarawan Y, Syamsunarno MRAA, Koitabashi N, Yamaguchi A, Hanaoka H, Hishiki T, Nagahata-Naito Y, Obinata H, Sano M, Sunaga H, Matsui H, Tsushima Y, Suematsu M, **Kurabayashi M.** Iso T  
Glucose is preferentially utilized for biomass synthesis in pressure-overloaded hearts: Evidence from fatty acid binding protein-4 and -5 knockout mice. *Cardiovasc Res.* 2018 *In Press.* (査読有)

② Obokata M, Negishi K, Sunaga H, Ishida H, Ito K, Ogawa T, Iso T, Ando Y, **Kurabayashi M.**  
Association Between Circulating Ketone Bodies and Worse Outcomes in Hemodialysis Patients. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(10). pii: e006885. (査読有)

③ Umbarawan Y, Syamsunarno MRAA, Obinata H, Yamaguchi A, Sunaga H, Matsui H, Hishiki T, Matsuura T, Koitabashi N, Obokata M, Hanaoka H, Haque A, Kunimoto F, Tsushima Y, Suematsu M, **Kurabayashi M.** Iso T.  
Robust suppression of cardiac energy catabolism with marked accumulation of energy substrates during lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction in mice. *Metabolism.* 2017;77:47-57. (査読有)

[学会発表] (計 2 件)

①Matsui H, Sunaga H, Iso T, Yokoyama T, **Kurabayashi M.**  
Inhibition of Fatty Acid Synthase Suppresses Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Neointimal Formation: Potential Therapeutic Target in Atherosclerosis.  
第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪。

②Sunaga H, Matsui H, Iso T, Koitabashi N, Shimano H, Yokoyama T, **Kurabayashi M.**  
Elovl6-driven Fatty Acid Metabolism Regulates Hypertrophic Response in the Heart Subjected to Pressure Overload in Mice.  
第 82 回日本循環器学会学術集会、大阪

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

倉林 正彦 (KURABAYASHI Masahiko)  
群馬大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 00215047

(2) 研究分担者

前野 敏孝 (MAENO Toshitaka)  
群馬大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 00436297