



Obesity impairs ciliary function and mucociliary clearance in the murine airway epithelium

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2025-05-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田中,悠子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000392

博士（医学）田中 悠子

論文題目

Obesity impairs ciliary function and mucociliary clearance in the murine airway epithelium

（肥満はマウス気道上皮の線毛機能と粘液線毛クリアランスを障害する）

論文の内容の要旨

[はじめに]

肥満は、A 型インフルエンザウイルス（IAV）感染症などのウイルス性呼吸器感染症における重症化の危険因子である。気道の粘液線毛クリアランス（MCC）は、気道に侵入したウイルスや異物を体外に排泄する役割を果たす重要な生体防御機構である。MCC の障害は呼吸器感染症の重症化に関連しており、遺伝的に MCC が障害される線毛機能不全症候群（PCD）等では重篤な呼吸器感染症を合併することが報告されている。肥満においても、MCC が障害された結果、ウイルス性呼吸器感染症の重症化を来している可能性が考えられるが、肥満が MCC に及ぼす影響は未だ解明されていない。そこで、本研究では、高脂肪食（HFD）誘発肥満モデルマウスの気管組織培養および *in vitro* IAV 感染モデルを用いて、肥満が気道の MCC に及ぼす影響とその機序を明らかにすることを目的とした。

[材料ならびに方法]

動物実験は浜松医科大学動物実験委員会の承認を得て実施した（承認番号 R03-020）。BALB/c マウス（4 週齢、雌）に 60% HFD を与えて飼育し、肥満マウスを作成した。対照マウスと肥満マウスより気管組織を採取し、気管の膜様部を切除して気道上皮を露出させた後、IAV 含有培養液で 1 時間培養して IAV を感染させた。IAV 感染の同定のため、透過型電子顕微鏡（TEM）で気道上皮細胞内のウイルス粒子を観察すると共に、*real-time PCR* で気管組織の IAV-RNA を定量評価した。続いて、対照群と肥満群の IAV 感染時および非感染時における線毛輸送能と線毛運動を比較解析した。線毛輸送能の解析では、マウス気管内腔を蛍光ポリスチレンビーズ含有液で満たし、蛍光顕微鏡とビデオカメラでビーズの移動を観察し、流体移動速度を算出した。線毛運動の解析では、気管の線毛先端を色素標識し、線毛の動きを高速カメラで撮影して（300 枚/sec）、線毛打頻度（CBF）を算出した。さらに、肥満が気道の MCC の異常を惹起する機序を解明するため、走査型顕微鏡（SEM）による気道上皮の線毛細胞の観察、ルシフェール 250 プラスを用いた気管培養上清中の ATP 濃度の測定、RNA-Seq と *real-time PCR* による線毛関連遺伝子の発現解析を行った。

[結果]

対照群と肥満群の気管組織培養を用いて気道上皮に IAV を感染させた。TEM 観察において、気道上皮細胞内に感染した IAV は両群で同程度だった。また、

IAV-RNA 量に、両群で差は認めなかった。以上より、感染初期において両群は同等に IAV に感染することが確認された。次に、対照群と肥満群において、IAV 感染時の流体移動速度と CBF を解析した。対照群では、IAV 感染により流体移動速度と CBF は有意に増加した。一方、肥満群では IAV 感染による両者の増加が消失していた。また、肥満群では、IAV 非感染時における流体移動速度と CBF は、対照群と比較して有意に低下していた。以上より、肥満は、IAV 感染時・非感染時における気道の MCC を低下させることが明らかとなった。

肥満における MCC 低下の機序を解明するため、対照群と肥満群の線毛細胞を SEM で観察したが、形態に差を認めなかった。我々は先行研究にて、IAV 感染は気道上皮の細胞外 ATP 放出を増加させて MCC を促進することを報告した。そこで、対照群と肥満群において、IAV 感染時の培養上清中の ATP 濃度を比較解析した。対照群では、IAV 感染 60 分後に ATP 濃度は有意に上昇したが、肥満群では ATP 濃度の上昇はみられなかった。一方、培養液中に ATP を添加すると、両群で同程度に流体移動速度と CBF は増加した。以上より、肥満による ATP 放出障害が MCC の低下に寄与することが示された。次に、線毛関連遺伝子の発現低下は MCC 障害と関連することが知られているため、対照群と肥満群の IAV 非感染時の気道上皮の線毛関連遺伝子発現を RNA-seq と real-time PCR で解析した。肥満群では、対照群と比較して 10 個の線毛関連遺伝子 (Dnah1、Dnal1、Armc4、Ttc12、ULK4、Cep164、Rsph4a、Cfap206、Ppil6、Drc3) の mRNA 発現が有意に低下していた。一方、ATP 受容体である P2 受容体遺伝子群の発現に、両群で差を認めなかった。

[考察]

本研究は、肥満が IAV 感染時・非感染時において気道の MCC を低下させることを明らかにした。この知見は、肥満では MCC が障害されてウイルスの体外排泄が遅延し、その結果、ウイルス性呼吸器感染症の重症化を来すことを示すものである。

気道上皮は、機械的刺激、細胞変形、ウイルス感染など種々の外的刺激により細胞外に ATP を放出して、ATP-P2 受容体経路を介して MCC を促進することが知られている。本研究において、肥満では、IAV 感染時の細胞外 ATP 放出が障害され、感染時の MCC 促進応答が減弱することを見出した。一方、肥満が如何なる機序で細胞外 ATP 放出を抑制するか、そのメカニズムは未解であり、今後解明すべき重要な課題といえる。また、肥満マウスでは、気道上皮における線毛関連遺伝子群の mRNA 発現が有意に低下していることを明らかにした。興味深いことに、PCD 患者では単一の原因遺伝子変異に加え、複数の線毛関連遺伝子の発現低下が確認され、それらが MCC の障害や PCD 病態に関与することが報告されている。したがって、本研究で明らかにされた複数の線毛関連遺伝子の協調的な発現低下は、肥満における MCC 障害に重要な役割を果たしている

と考えられた。

本研究で見出した肥満による MCC 障害とその機序は、肥満におけるウイルス性呼吸器感染症重症化の制御法の開発に向けた重要な基礎的基盤となるものである。

[結論]

肥満は、線毛関連遺伝子群の発現低下と細胞外 ATP 放出抑制により気道の MCC を障害し、ウイルス性呼吸器感染症の重症化をもたらすと考えられる。