

気管支喘息の病態形成と 細菌鞭毛タンパク フラジェリンの役割

丸岡秀一郎¹⁾, 権 寧博¹⁾, 岡山吉道²⁾

The role of bacterial flagellin in the pathogenesis of asthma

Shuichiro MARUOKA¹⁾, Yasuhiro GON¹⁾, Yoshimichi OKAYAMA²⁾

要旨

気管支喘息は、遺伝因子と環境因子が相互作用し、病態を形成している。ハウスダストは、喘息を誘導する代表的な環境因子である。筆頭著者は、ハウスダストの中に細菌構造物質フラジェリン (FLA) が存在すること、抗原に対するアジュバント効果を有し、マウスに喘息様病態を引き起こすことを報告した。本研究の目的は、血清中抗FLA抗体を用いて、ヒト喘息病態におけるFLAの臨床的意義を見出すことである。喘息患者群及び健康者群の血清中抗FLA抗体を測定し、比較検討した結果、統計学的有意差を認めなかったが、喘息患者の抗FLA抗体高値群と低値群の比較では、気道流速制限 (50%肺活量及び25%肺活量の気量位における気速) に有意差を認めた。抗FLA抗体は喘息病態を把握するバイオマーカーとしての可能性が示唆されたが、更なる検討を要すると考えられる。

1. はじめに

気管支喘息は、遺伝要因と環境要因が相互作用することにより自然免疫反応及び獲得免疫反応に影響を与え、アレルギー性気道炎症、気道粘液産生亢進、気道過敏性亢進、気管支平滑筋収縮などを引き起こし、喘鳴を伴う呼吸困難を生じる疾患である。これまで様々な環境因子が発症及び増悪因子として研究されている。中でもハウスダストは、ダニ抗原をはじめとしたアレルゲンや細菌構造物質であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide:LPS) などを含有し、喘息の発症機序において最も強く関連が指摘されている環境因子である。筆頭著者は、ハウスダストの中に細菌の鞭毛構造物質フラジェリン (FLA) が存在し、喘息の病態に関与することを報告した¹⁾。また、FLAは、抗原 (卵白アルブミン) に対するアジュバントとして働き、マウスに喘息様病態 (アレルギー性気道炎症、気道粘液産生亢進、気道過敏性亢進など) を引き起こす。更に、軽症から中等症の喘息患者の血清中の抗FLA抗体を測定したところ健康者

群よりも有意に増加していたことから、診断、治療への応用が期待できる結果となった。しかし、検体数が限られていたこともあり、詳細な検討が必要であった。

近年、気管支喘息発症メカニズムに外来病原細菌だけではなく、生体内の細菌叢 (気道、腸管など) が深く関与しているとの報告が相次いでいる²⁾。鞭毛を有する細菌は、生体内の細菌叢にも存在していることから、FLAがハウスダストを介して外部からだけではなく生体内からも喘息発症に影響していることが推測される。本研究の目的は、血中抗FLA抗体を測定することによりFLAがどのように生体に作用し、喘息を発症させているのかを明らかにするとともに診断、治療につながる臨床的意義を見出すことである。

2. 対象及び方法

1) 対象

日本大学医学部附属板橋病院呼吸器内科に通院

1) 日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野
2) 日本大学医学部医学教育企画推進室
丸岡秀一郎: maruoka.shuichiro@nihon-u.ac.jp

し、呼吸器専門医が喘息と診断した喘息患者群 (n=63) 及び非喘息患者群 (健常ボランティアを含む) (n=18) を対象とした。健常ボランティア及び患者からの血液採取に際しては、被験者より文書同意を取得し、「臨床研究に関する倫理指針」及びヘルシンキ宣言を遵守する。検体採取の対象、方法、検体の保管管理、患者情報の管理、情報開示などに関するあらゆる項目を日本大学医学部の倫理委員会の承認を受けるとともに日本大学医学部附属板橋病院臨床研究審査委員会の承認後、施行した。

2) 呼吸機能検査

呼吸機能検査は、日本大学医学部附属板橋病院、呼吸機能検査室においてCHESTAC-8800 (チェスト社、東京) を用いて測定した。測定項目は以下の通りである。肺活量: vital capacity (VC), 努力肺活量: forced vital capacity (FVC), 1秒率: forced expiratory volume % in 1 second (FEV_{1.0}) / FVC × 100, 気道気流制限は、50% VCの気量位における気速: flow at 50% FVC (V₅₀), 25% VCの気量位における気速: flow at 25% FVC (V₂₅), V₅₀/V₂₅。

3) Enzyme-linked immunoassay法による抗FLA抗体測定

リコンビナントFLA (invivoGen, CA, USA) を96ウェルプレートに100ng/ウェルの濃度で固相化し、一晚4°Cで静置した。検体 (血清500倍希釈) を添加し、攪拌しながら2時間反応させる。洗浄後、0.5ug/mlのhorseradish peroxidase conjugated anti-human IgG (Thermo Scientific, MA, USA) を添加し、1時間後、洗浄した。SureBlue TMB Microwell Peroxidase Substrate (KPL, MD, USA) を加え攪拌し、反応停止液を添加し、MULTISKAN GOマイクロプレートリーダー (Thermo Scientific, MA, USA) を用いて吸光度450nmで測定した。

データは、平均値±標準誤差値 (SEM) で記載した。実験群間の統計学的有意性は、Mann-Whitney U検定を用いて評価し、P < 0.05を有意とした。データはGraphPad Prism Software, (La Jolla, CA) を用いて解析した。

3. 結果

喘息患者群及び健常者群の血清中抗FLA抗体を測定し、比較検討した結果、統計学的有意差は認められなかった。また、喘息患者の抗FLA抗体値を中央値で高値群 (high) と低値群 (low) に分け、一秒率を比較検討したところ、有意差を認めなかった (図1)。しかし、気道気流制限で比較したところ、50% VCの気量位における気速 (V₅₀) (p=0.0178), 25% VCの気量位における気速 (V₂₅) (p=0.0096) で、統計学的有意差を認めた (図2)。末梢気道気流制限をより反映するといわれているV₅₀/V₂₅については統計学的な有意差は認められなかった (図2)。

4. 考察

今回、喘息患者群の血清中抗FLA抗体値は、非喘息患者群の血清中抗FLA抗体値と比較して、有意な上昇は認めなかった。しかし、喘息患者の血清中抗FLA抗体値が高値のときは、気道の気流制限を認める可能性が示唆された。

筆頭著者が行った先行研究では、軽症から中等症の喘息患者12人、健常ボランティア12人の血清中抗フラジェリン抗体のみを測定した。呼吸機能を含めた臨床データとの相関関係については検討がなされていなかったため、今回、同様の測定方法を用いて、抗FLA抗体測定及び呼吸機能を比較検討した。先行研究¹⁾の結果では、喘息患者群の抗FLA抗体値は、健常群と比較して有意に上昇が認められたが、

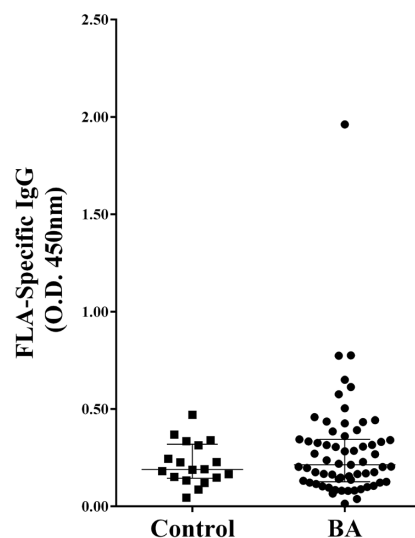


図1 非喘息群 (Control), 喘息群 (BA) の血清中抗FLA抗体値の比較

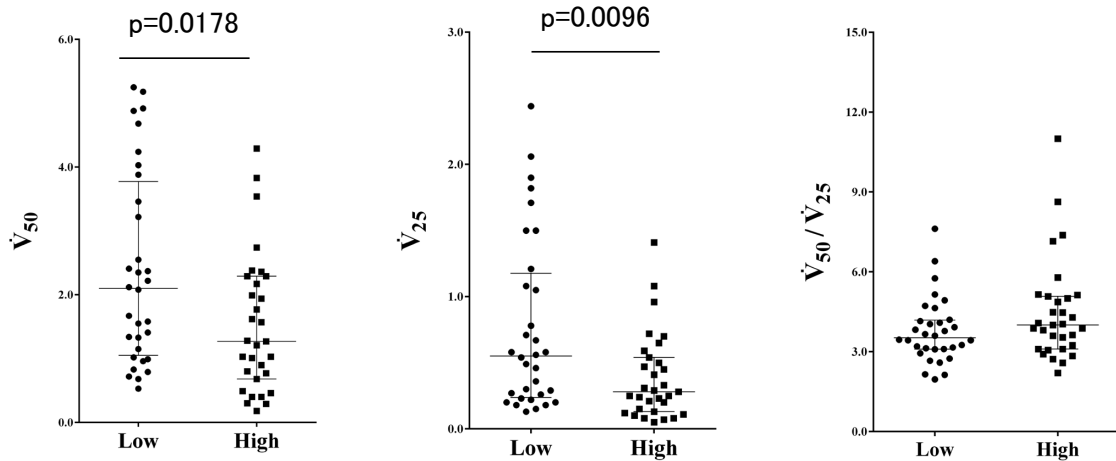


図2 喘息患者の血清中抗FLA抗体値による気道気流制限の変化

本研究では認められなかった。この結果の相違を認めた要因は、先行研究の対象喘息患者は軽症から中等度の喘息であり、無治療および気管支拡張薬単剤の治療が中心であったのに対し、本研究では、喘息患者のほぼ全例が吸入ステロイド単剤あるいは吸入ステロイド、長時間作用型気管支拡張薬合剤による治療介入があり、安定期にある患者が中心であった。治療による改善が、抗FLA抗体値の先行研究の結果との相違の原因と考えられる。今後は、継続して症例数を積み重ねていくとともに治療導入前と

導入後及び発作時と非発作時についても比較検討を行う予定である。

文 献

- 1) Wilson, R.H., *et al.* The Toll-like receptor 5 ligand flagellin promotes asthma by priming allergic responses to indoor allergens. *Nature medicine* **18**, 1705-1710 (2012).
- 2) Hansel, T.T., Johnston, S.L. & Openshaw, P.J. Microbes and mucosal immune responses in asthma. *Lancet* **381**, 861-873 (2013).