

**ダニアレルゲン(HDM)によるマウス喘息モデルにおける
アンジオテンシン変換酵素 2(angiotensin converting enzyme 2; ACE2)の役割**
**The role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in the house dust mite-induced allergic
airway inflammation**

福田麻佐美^{1), 2)}、丸岡秀一郎^{1), 2)}、山田志保^{1), 2)}、黒澤雄介^{1), 2)}、神津 悠^{1), 2)}、権 寧博^{1), 2)}
Asami FUKUDA^{1), 2)}, Shuichiro MARUOKA^{1), 2)}, Shiho YAMADA^{1), 2)}, Yusuke KUROSAWA^{1), 2)}, Yutaka
KOZU^{1), 2)}, Yasuhiro GON^{1), 2)}

¹⁾日本大学医学部 内科学系呼吸器内科学分野、²⁾日本大学医学部附属板橋病院 アレルギーセンター

[要旨]

ハウスダストダニアレルゲン(house dust mite, HDM)誘導性喘息モデルの炎症増幅過程における肺組織を用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、有意に発現が減少するアンジオテンシン変換酵素 2(angiotensin converting enzyme 2; ACE2)を同定した。ACE2の活性化物質である diminazene aceturate(DIZE)の腹腔内投与群は、コントロール群と比較して HDM による BALF 中の好酸球浸潤、肺組織への炎症性細胞浸潤および粘液産生細胞の過形成、気道過敏性の亢進のいずれも抑制した。HDM による BALF 中 IL-5、IL-13 の上昇、IL-10 の減少、肺組織の IL-33、CCL20 の上昇をいずれも抑制した。ACE2 は HDM 誘導性アレルギー性気道炎症を抑制的に制御している可能性が示唆された。また、ACE2 は喘息新規治療薬の標的分子となる可能性が示唆された。

[背景]

気管支喘息(以下、喘息)の病態は、HDM に代表される環境因子により誘導されるアレルギー性気道炎症といわれているが、いまだに不明な点が多く、現行の治療に抵抗性を示す重症患者も少なくない。新たな治療につながる病態解明は急務である。これまで HDM 誘導性マウス喘息モデルを用いて、HDM 感作によるアレルギー性気道炎症の増幅機序を解明してきた¹⁾が、治療標的となりうる分子の同定には至っていない。

[目的]

本研究の目的は、HDM によるアレルギー性気道炎症の増幅過程で発現が変動する分子群から、新たな治療標的となりうる分子を同定し、新規喘息治療薬を見出すことである。

[対象及び方法]

(1) HDM を用いたマウス喘息モデル

本実験は「日本大学動物実験運営内規」を遵守し、動物実験計画書の通り行った。C57BL/6J マウスに HDM を 3 回(第 0、7、14 日)経気道的に投与した。第 17 日に気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid; BALF)中の好酸球数、BALF および肺組織中のサイトカイン産生を

ELISA 法で測定した。また、肺組織への炎症細胞の浸潤および粘液細胞の過形成、気道過敏性亢進の有無を評価し、喘息病態形成を確認した。

(2) 網羅的遺伝子発現解析

第 0、3、7、10、14、17 日にマウス肺組織から全 RNA を抽出し、マイクロアレイを用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、発現が変動する標的分子を同定した。

(3) 標的分子に作用する薬剤による HDM 誘導性アレルギー性気道炎症抑制効果

Control あるいは HDM を第 0、7、14 日に経気道的に投与し、第 10～16 日に Control あるいは新規薬剤の腹腔内投与を行い、第 17 日に BALF 中の肺組織中の IL-5 の好酸球数の測定およびサイトカイン産生を ELISA 法で測定した。また、肺組織への炎症細胞の浸潤および粘液細胞の過形成、気道過敏性亢進の抑制効果も検証した。

(4) 統計学的解析

データは Graphpad Prism Software(La Jolla, CA, USA)を使用し解析した。実験群間における比較には、正規分布を示すデータはスチューデント t 検定を用い、非正規分布を示すデータは Mann-Whitney U 検定を用いて評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。明記している場合を除いて、数値は平均値±標準誤差値で記載した。

[結果]

マイクロアレイのチップに実装されている 28944 遺伝子から、網羅的遺伝子発現解析を行い、第 17 日のコントロール群と HDM 群を比較し、有意に変動している遺伝子を 9293 同定した。さらに 5 倍以上発現が減少していた 17 遺伝子の 1 つとして、ACE2 を同定した。ACE2 はアンジオテンシン II をアンジオテンシン(1-7)へ変換する酵素であり、アンジオテンシン(1-7)/Mas receptor 経路を介して抗炎症作用や抗線維化作用を示す²⁾。ACE2 の活性化物質である diminazene aceturate(DIZE)の腹腔内投与群は、コントロール群と比較して HDM による BALF 中の好酸球浸潤、肺組織への炎症性細胞浸潤および粘液産生細胞の過形成、気道過敏性の亢進のいずれも抑制した。HDM による BALF 中 IL-5、IL-13 の上昇、IL-10 の減少、肺組織の IL-33、CCL20 の上昇をいずれも抑制した。

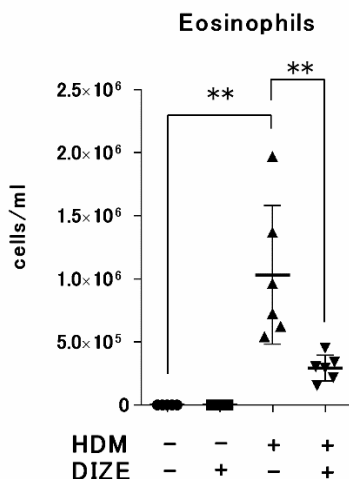


図 1 DIZE 投与による HDM 誘導性アレルギー性気道炎症抑制効果

HDM 100 μ g/マウスまたはコントロールを第 0、7、14 日に経気道投与し、DIZE またはコントロールを第 10～16 日に腹腔内投与し、第 17 日に BALF を採取した (n=6、** : $p < 0.01$)

[考察]

HDM 誘導性マウス喘息モデルを用いて、網羅的遺伝子発現解析から ACE2 を同定した。ACE2 は HDM 誘導性アレルギー性気道炎症を抑制的に制御している可能性が示唆された。ACE2 活性化物質の投与により HDM 誘導性アレルギー性気道炎症が抑制されたことから ACE2 は喘息新規治療薬の標的分子となる可能性が示唆された。

[結論]

ACE2 活性化物質である DIZE は、喘息の新規治療薬となる可能性がある。

[参考文献]

- ¹⁾Koyama D, Maruoka S, Gon Y, Shintani Y, Sekiyama T, Hiranuma H, Shikano S, Kuroda K, Takeshita I, Tsuboi E, Soda K, Hashimoto S: Myeloid differentiation-2 is a potential biomarker for the amplification process of allergic airway sensitization in mice. Allergol Int. 2015; 64 Suppl: S37-S45.
- ²⁾Tan WSD, Liao W, Zhou S, Mei D, Wong WF: Targeting the renin-angiotensin system as novel therapeutic strategy for pulmonary diseases. Curr Opin Pharmacol. 2018; 40: 9-17.