

令和 5 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
研究課題名	特発性肺線維症における下気道細菌叢 dysbiosis の病的機序の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部内科学教室（呼吸器・アレルギー内科部門）西山 理 共同研究者：医学部教育センター 藤田 貢	

1. 研究目的・内容

特発性肺線維症（IPF: idiopathic pulmonary fibrosis）は肺線維化が徐々に進行する原因不明かつ予後不良の難治性疾患である。近年、次世代シーケンサーを用いた網羅的細菌叢解析により、IPF 患者の下気道細菌叢異常（dysbiosis）と疾患進行との関連が示されつつあるが、ほとんどは臨床的観察研究の結果であり、因果関係については不明である。本研究では、IPF 症例に対して挿管下に気管支肺胞洗浄（BAL）を行い、口腔内細菌叢混入のない下気道細菌叢解析を行い、IPF 進行に関連する細菌群を同定する。それらの菌をブレオマイシン誘導 IPF マウスモデル内で操作し、細菌叢 dysbiosis と IPF 発症・進行との因果関係を明らかにする。同一症例における急性増悪前後の下気道細菌叢の比較、下気道細菌叢と腸内細菌叢の関連も明らかにする。以上をもって IPF における肺線維化進行および急性増悪における下気道細菌叢の寄与メカニズムを明らかにするとともに進行抑制法の開発を目指す。本研究は、先の平成 30 年度 21 世紀研究開発奨励金に申請し採択された、「慢性線維化性間質性肺炎における気道マイクロバイオーームおよびその役割の解明に関する研究」をさらに発展させる内容となる。

上記の内容に加え、近年、腸内細菌叢の主要代謝産物である短鎖脂肪酸（Short-chain fatty acids: SCFA）がその受容体 Free Fatty Acid Receptor (FFAR) 2/3 を介して種々の臓器の炎症制御・感染防御に関与することが判明した。また SCFA の一つである酪酸は、基礎実験レベルで抗線維化作用を有する可能性が示唆されている。しかし SCFA の抗線維化作用の研究は緒についたばかりで、ヒト検体での解析はない。そこで新たな研究目的として、IPF 及び進行性線維化を伴う間質性肺疾患症例由来クライオ肺生検組織における FFAR2/3 発現と肺機能の経時的変化との関連を明らかにする。また肺組織と同時に採取される下気道細菌叢での SCFA 産生菌占有率と肺組織 FFAR 発現、肺機能の変化等との関連も明らかにする。これら解析により、肺線維化に対する下気道細菌叢由来 SCFA-FFAR2/3 作用の解明を目指す。

2. 研究経過及び成果

呼吸器・アレルギー内科で行う BAL の解析には、細胞数、細胞分画、細胞表面マーカーが含まれる。細胞数、細胞分画については、従来教室内で解析を行ってきたが、令和 5 年度より BAL 解析の基本部分を検査室で施行いただき、研究関連部分の解析のみ教室内で行うようフローが完成した。細菌叢を含む BAL 液の濃縮サンプルを教室内にて保存開始した。

また間質性肺疾患患者からクライオ肺生検で採取した肺組織の病理解析を開始している。特に IPF での肺線維化に重要な役割を果たしていると考えられているマクロファージに焦点を当てることとし、マクロファージにおける FFAR2 の発現を評価する目的で、マクロファージに特異的に発言している Iba1 と FFAR2 に対する二重染色を行い染色された細胞の線維化肺での局在を明らかにする。抗 FFAR2 抗体による染色については、ポジティブコントロールの扁桃、脾臓を用い染色条件を確立したところである。疾患も IPF のみならず、線維化の進行が見られる線維化性 Interstitial lung disease (ILD) に症例範囲を広げて、現在肺組織内のマクロファージおよび FFAR2 の 2 重染色に着手している。さらに、マクロファージの中でも特に肺線維化への関与で重要と考えられている M2 マクロファージを評価するため、抗 Iba1 抗体と抗 CD163 抗体による二重染色も開始した。FFAR2 評価症例と同症例の肺組織を用いて染色を開始している。

染色が確定した際は、評価対象の ILD 症例数を増やし、病理バーチャルスライド上で FFAR2 陽性マクロファージおよび M2 マクロファージの局在と肺線維化との関係を専用の AI ソフトを用いて評価する予定であるが、その評価方法について現在専門病理医と数回のミーティングを重ねている。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)