

学位授与番号：甲 976 号

氏 名：海野 浩寿

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 26 年 9 月 24 日

学位論文名：

シリカ含有塵埃による気道炎症発症の分子メカニズムに関する研究

主論文名：

**Silica and Double-Stranded RNA Synergistically Induce Bronchial Epithelial Apoptosis and Airway Inflammation.**

(シリカと 2 本鎖 RNA は相乗的に気道上皮細胞のアポトーシスと気道炎症を誘導する)

学位審査委員長：教授 桑野和善

学位審査委員：教授 吉田清嗣 教授 小島博己

# 論文要旨

海野 浩寿

指導教授名 井田 博幸

## Silica and Double-Stranded RNA Synergistically Induce Bronchial Epithelial Apoptosis and Airway Inflammation

(シリカと 2 本鎖 RNA は相乗的に気道上皮細胞のアポトーシスと気道炎症を誘導する)

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology  
DOI: 10.1165/rcmb.2013-0281OC on March 24, 2014 in press

本研究の目的は、大気浮遊微粒子の気道上皮細胞に与える影響とその機序を検討することにより、塵埃の吸入による呼吸器疾患の増悪メカニズムを解明することである。大気浮遊微粒子の中でも、特に火山灰や黄砂の主要成分であるシリカに着目した。シリカに着目した理由は、以下の二点に集約される。①多くの疫学的調査から、火山灰や黄砂などシリカ含有塵埃の吸入は、喘息や慢性閉塞性肺疾患の増悪に関連することが明らかとなっている。②シリカは食細胞に作用してインフラマソームと呼ばれる自然免疫機構の活性化を誘導することが分かっているが、気道上皮細胞に対する影響については不明である。

本研究により、シリカは気道上皮細胞のインフラマソーム活性化を誘導しないが、ウイルス感染時と同様の細胞応答経路を活性化する合成 2 本鎖 RNA (poly I:C) の共存下でのみ、caspase-9 依存性のアポトーシスを誘導することが明らかとなった。また、シリカと poly I:C によるアポトーシスは、気道上皮細胞上に発現するスカベンジャー受容体を介して誘導されている可能性が示唆されたが、TLR3 はこのアポトーシス誘導に全く関与していないことが分かった。さらにマウスにシリカと poly I:C を経鼻的に共投与すると、気道の好中球性炎症の増悪と上皮傷害を引き起こすことが分かった。この時、肺組織におけるインフラマソーム活性化は観察されず、培養気道上皮細胞の結果を再現することができた。

これらの研究成果により、火山灰や黄砂などシリカ含有塵埃の吸入による呼吸器疾患の増悪には、気道上皮細胞にこれらが直接作用することにより caspase-9 に依存した上皮傷害を引き起こし、好中球性の気道炎症を悪化させるメカニズムが関与する可能性が示唆された。これは気道上皮細胞におけるシリカの生物学的作用を示した最初の報告であると同時に、慢性呼吸器疾患の増悪を防ぐ新規治療標的の開発に役立つものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

海野浩寿氏の Thesis は「シリカ含有塵埃による気道炎症発症の分子メカニズムに関する研究」であり、主論文は *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* (impact factor 4.1) に in press の論文である。

気道上皮細胞は、外来からの刺激に反応し、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしているため、その機能異常は、気管支喘息や、COPD の病態に深く関係しております。本研究の目的は、大気微粒子の中で、シリカによって誘導される気道炎症の機序を解明することにあります。大気中の微粒子は、食細胞に作用し、インフラマソームと呼ばれる自然免疫機構の活性化を介して、IL-1 $\beta$  や IL-18 の誘導に必須であります。本研究では、ヒト気道上皮細胞に第一のシグナルとして TNF- $\alpha$ 、LPS、あるいはウイルス感染と同様の刺激である合成 2 本鎖 RNA である poly I:C、そして第二のシグナルとしてシリカを添加し、インフラマソームの活性化を検討しております。

その結果、当初の予想に反して、シリカは気道上皮細胞にインフラマソームの活性化を誘導しませんでした。しかし、TNF- $\alpha$  や LPS ではなく、poly I:C の刺激下では、シリカは濃度依存的に気道上皮細胞にアポトーシスを誘導しました。また、マウスにシリカと poly I:C を経鼻的に投与すると気道の好中球性炎症と上皮傷害を誘導しました。しかし、インフラマソームの活性化は引き起こしませんでした。これらの結果よりシリカ含有塵埃の吸入によってインフラマソーム非依存性の気道炎症と上皮障害が惹起され、ウイルス感染時に増悪する可能性が示唆されたと結論しております。

平成 26 年 8 月 5 日、吉田清嗣教授、小島博己教授のご臨席のもと、公開学位審査委員会を開催し、海野浩寿氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を行いました。この発表に関して、審査委員より、なぜ TNF- $\alpha$ 、LPS、poly I:C を気道の刺激物質として選択したのか、細胞外に pro-IL-1 $\beta$  や LDH、HMGB1 が放出されるのはアポトーシスではなく、二次性のネクローシスを見ているのではないか、ミトコンドリアを介するアポトーシスに至る機序は何か、bcl-2 ファミリーの関与はないのか、など多くの質問がなされましたが、海野氏は質問に対して的確に答えられました。

審査委員で討議した結果、シリカ含有粉塵の吸入による呼吸器疾患増悪のメカニズムの一端を分子レベルで解明した重要な報告であると評価し、本論文を学位論文として価値があるものと判断いたしました。