

学位授与番号：乙3077号

氏名：小島 淳

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成26年2月12日

学位論文名：

慢性閉塞性肺疾患（Chronic obstructive pulmonary disease；COPD）の肺胞マクロファージにおける apoptosis inhibitor of macrophage（AIM）の発現

主論文名：

Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) expression in alveolar macrophages in COPD.

(慢性閉塞性肺疾患(COPD)の肺胞マクロファージにおける Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)の発現)

学位審査委員長：宇都宮一典教授

学位審査委員：南沢享教授、中川秀己教授

論文要旨

論文提出者名	小島 淳	指導教授名 桑野 和善
<p data-bbox="212 663 437 696">主論文題名</p> <p data-bbox="212 712 1356 790">“Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) expression in alveolar macrophages in COPD”</p> <p data-bbox="212 806 1356 884">(慢性閉塞性肺疾患(COPD)の肺胞マクロファージにおける Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)の発現。)</p> <p data-bbox="212 900 734 934">誌名 Respiratory Research 2013, 14:30</p> <p data-bbox="212 996 300 1030">要旨</p> <p data-bbox="212 1046 1356 1937">アポトーシス抵抗性によってもたらされる肺胞マクロファージの著明な蓄積は、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)の病因に関与することが知られている。一方 Apoptosis inhibitor of macrophage(AIM)は、組織マクロファージから産生され、様々なアポトーシス誘導刺激に対して抗アポトーシス作用を持つことが知られている。よって我々は、AIM のヒト肺胞マクロファージにおける発現、そしてタバコ煙抽出液(CSE)刺激下で AIM がアポトーシス調節へ関与しているのかどうか検討を試みた。COPD 患者 5 例、COPD を有さない喫煙者 5 例、非喫煙者 5 例から採取した肺組織検体を用いて AIM の免疫組織染色を行い、肺胞マクロファージ数及び AIM 陽性肺胞マクロファージ数を評価することで、AIM の免疫組織学的検討を行った。次に、COPD を有さない被験者の気管支肺胞洗浄液より肺胞マクロファージを分離培養し、肺胞マクロファージにおける CSE 刺激に対する AIM の発現レベルの変化を検討した。抗アポトーシス分子である Bcl-xL のノックダウンは siRNA トランスフェクションを用いた。また、単球-マクロファージ系細胞株である U937 細胞を用いて、AIM の抗アポトーシス作用機序に関して検討した。COPD 患者の肺組織検体において、肺胞マクロファージ数と AIM 陽性肺胞マクロファージ数の明らかな増加を認めた。AIM の発現は、肺胞マクロファージにおいて mRNA 及び蛋白レベルで示され、さらに CSE 刺激によりその発現は亢進した。また AIM は、肺胞マクロファージにおける Bcl-xL の発現を有意に亢進させた。さらに U937 細胞において、Bcl-xL は CSE 刺激下における AIM の抗アポトーシス機序に一部関与していた。これらの結果から、喫煙による AIM の発現が COPD 患者における肺胞マクロファージの蓄積に関与している可能性が示唆された。</p>		

論文審査の結果の要旨

小島 淳の Thesis は、慢性閉塞性肺疾患の肺胞マクロファージにおける apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) の発現と題され、Respiratory Research (IF 3.64)に 2013 年に発表された同名の主論文と他 2 編の副論文から構成されており、呼吸器内科 桑野和善教授のご指導によるものである。

慢性閉塞性肺疾患(以下、COPD と略す) は、我が国でも主要な死亡原因の一つになりつつあり、喫煙がその主な原因である。これまでの報告から、肺胞マクロファージ集積の機序を明らかにすることは、COPD の病態を理解する上で重要と考えられている。しかしながら、COPD 肺における肺胞マクロファージ数の増加が、マクロファージの局所での増殖によるものなのか、単球の流入増加によるものなのか、もしくはアポトーシス抵抗性による寿命の延長によるものなのかは、未だ明らかになっていない。一方、Apoptosis inhibitor of macrophage (以下、AIM と略す) は、組織マクロファージによってのみ産生され、マクロファージ自身のアポトーシスを強く抑制する作用を持つことが知られているが、肺組織での発現の有無に関し、検討例はない。そこで、小島氏は、ヒト肺胞マクロファージにおける AIM の発現を検討し、タバコ煙抽出液刺激下における動態と肺胞マクロファージのアポトーシスとの関係を明らかにする目的で、本研究を行なった。

COPD 患者 5 例、COPD でない喫煙者 5 例、非喫煙者 5 例から採取した肺組織を用いて、AIM 発現の免疫組織学的検討を行ったところ、COPD 患者の肺組織検体において、肺胞マクロファージ数と AIM 陽性肺胞マクロファージ数の明らかな増加を認めた。そこで、肺胞マクロファージを、COPD を有さない患者の気管支肺胞洗浄液より分離し、タバコ抽出物刺激による AIM 発現の変化を検討したところ、濃度依存的にタバコ抽出液は AIM の発現を亢進することが判明した。そこで、単球—マクロファージ系細胞株である U937 細胞を用いて、リコンビナント AIM のタバコ抽出物誘導性アポトーシスに対する効果を、DNA 断片抽出法、カスパーゼ活性化、FACS による DNA 含有分析により検討した。U937 細胞では、AIM は抗アポトーシス子である Bcl-xL の発現を有意に亢進させた。タバコ抽出物は、U937 細胞におけるカスパーゼ 8 ならびに 9 の活性化とともにアポトーシスを誘導した。これらの apoptotic シグナルの活性化と アポトーシスは AIM の前処置により抑制され、この抑制効果は AIM の siRNA によってキャンセルされることが判明した。これらの研究結果から、小島氏は、肺胞マクロファージに発現した AIM が、パラクライン的に作用し、Bcl-xL など抗アポトーシスシグナルの活性化などを介して、肺胞マクロファージ集積に関与している可能性が示唆されたと結論した。

本 thesis の公開審査は、南沢 享教授、中川秀巳教授を審査委員として、平成 26 年 2 月 3 日に行われた。席上、以下のような質問があった。

- 肺組織標本で AIM の発現を免疫組織学的に検討しているが、特異性はどの程度期待できるのか。肺胞壁にも染まっているが、細胞種は何か。他の細胞種からの AIM の産生の意義をどのように考えるか。
- 健常者からの肺胞洗浄液を用いているが、喫煙者あるいは COPD 患者からの洗浄液からのマクロファージを検討すべきではないか。
- タバコ抽出液の主成分は何か。用いた濃度の生理的意義は検討したか。タバコ喫煙本数との関係は、どのようなものか。
- 抗アポトーシス効果について、Bax 系への影響を検討したか。
- COPD 動物モデルでは、同じ知見がえられているか。
- AIM 自体の誘導因子は何か。TNF- α など、他のアポトーシス誘導因子の関与はないか。
- AIM の抗アポトーシス作用のみで、COPD におけるマクロファージの浸潤を説明しうるか。COPD における肺胞上皮細胞のアポトーシスは、むしろ病態の増悪に関与している。この乖離をどのように説明するか。
- AIM は肝臓などでは抗腫瘍効果が知られている。タバコの発がん作用について、AIM の関与はないのか。

小島氏はこれらの質問に対して、いずれも的確に回答した。

その後、南沢教授、中川教授と慎重に審議し、本研究は肺疾患における AIM の意義を初めて明らかにした興味深いものであり、学位請求論文として十分に価値のあるものとの結論に至った。