

審査の結果の要旨

氏名 石井 崇史

本研究は慢性閉塞性肺疾患(COPD)の急性増悪の病態と、自然免疫系の関わりを明らかにする為に、自然免疫受容体である TLR4 の下流の転写因子である IRF3 に着目し解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型(WT)/ IRF3KO 雄マウスを用いて、Pancreatic porcine elastase (PPE)を経鼻投与して肺気腫を誘発後、1週後に LPS を経鼻投与した (PPE+LPS 群)。比較対照として PPE 群も作成した。評価項目は 0 週、1 週、2 週、4 週、6 週に micro-CT による胸部 CT 撮影と 6 週後の肺組織病理像とした。IRF3KO PPE+LPS 群では WT 同群と比して、CT 上の経時的気腫拡大の抑制を認め、また、WT 群では 4 週以降で LPS による気腫形成拡大効果を認めたが、IRF3KO 群では同様の効果は認められなかった。病理においても IRF3KO 群において肺胞腔拡大の抑制が認められた。以上より PPE 投与後の LPS による肺気腫形成の拡大は IRF3KO 群において抑制される事が示された。
2. 病変形成における初期の細胞浸潤、サイトカイン産生の差異について検討する目的で、PPE+LPS 投与により誘発される急性炎症に関して検討を行った。定量 PCR 法による COPD に関与するサイトカイン・ケモカインの発現解析では、MCP-1、TNF- $\alpha$ 、MIP-1 $\alpha$ 、CXCL10 の発現解析では WT、IRF3KO 群とも PBS 単独投与群と比して発現上昇を認めたが、IRF3KO PPE+LPS 群では WT 同群と比して有意な発現低下を認めた。一方、IL-17A では IRF3KO 群での発現上昇を認めた。気管支肺胞洗浄液の細胞数、細胞分画の解析では PPE+LPS 投与により WT 群、IRF3KO 群とも PBS 群と比して総細胞数、好中球数の上昇を認めたが、IRF3KO 群の方が WT 群より上昇が顕著であった。以上より、急性炎症期においては IRF3 を介した COPD に関与する液性因子の発現上昇が認められる一方、肺に遊走する好中球数は IRF3 欠損により逆に増多する事が示された。

3. 細胞レベルでの機能解析の為に、PPE+LPSによる急性炎症期の肺組織由来の好中球、マクロファージの単離をセルソーターにて施行した。単離した細胞を用いて好中球のMPO活性、フローサイトメトリーを用いた蛍光ラテックスビーズの貪食能活性、免疫細胞染色によるオートファジー関連タンパクの発現を調べた。好中球のMPO活性はWT、IRF3KO群で差は認められなかったが、貪食能は好中球においてIRF3KO群で低下を認めた。オートファジー関連タンパクであるLC-3のクロロキン処理後での発現上昇はWT好中球において確認されたが、IRF3KO好中球では明らかでなかった。以上より、PPE+LPS投与による好中球の貪食能やオートファジー活性はIRF3KO群に低下している事が示された。

以上、本論文はCOPD急性増悪のモデルにおいてLPS投与による肺気腫形成の拡大が見られ、背景にCOPDに關与する液性因子の増多と好中球の肺内への遊走と活性化が認められる事、またIRF3が上記液性因子と好中球の活性化に促進的な關与をし、本モデルにおける肺気腫形成の拡大に關与する可能性を明らかにした。本研究は現状では予後不良の病態であるCOPD急性増悪の病態解明と新規治療薬の作成に重要な貢獻をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。