

論文の内容の要旨

論文題目 炎症性肺疾患の病態におけるアポトーシス抑制因子 AIM の関与

氏名 木村 裕樹

【背景】肺の炎症性疾患には代表的なものに慢性閉塞性肺疾患 (COPD), 間質性肺疾患などがあるが, これらは進行すると難治であり病態に未解明な部分も多く, 現代においても臨床医学上の重要な疾患群である. これら炎症性肺疾患の病態の検討の一環として, 本研究ではアポトーシス抑制因子 AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) に着目しマウスモデルを中心とした検討を行った.

【方法】C57BL/6 バックグラウンドの野生型 (WT) マウスと AIM^{-/-} (AIM-KO) マウスを対象にブレオマイシン経気道投与肺線維症モデル, タバコ煙曝露肺気腫モデル, lipopolysaccharide (LPS) 経気道投与 ALI (急性肺障害) / ARDS (急性呼吸窮迫症候群) モデルの各実験系を構成し, 評価を行った. ブレオマイシン経気道投与モデルでは, 8-12 週齢のメスマウスに対して 1 個体あたり 25 μ g あるいは 50 μ g のブレオマイシンを経気道投与し, 投与後 day 7, day 14, day 28 に解剖して気管支肺胞洗浄 (BAL) 液の細胞分画, 組織所見, 肺組織遺伝子発現などを評価した. タバコ煙曝露モデルでは, 8-12 週齢のオスマウスを対象とし, タバコ煙曝露群のマウスに市販のフィルタータバコの主流煙を空気にて希釈して 5%濃度として 1 日 60 分, 週 5 回の鼻部曝露を施行, 短期曝

露実験ではタバコ煙曝露 3 日間, 1 週間, 2 週間, 4 週間それぞれの時点で解剖し評価した. また長期曝露実験ではタバコ煙曝露 16 週間の時点で解剖し, 気腫性変化の評価をした. LPS 経気道投与モデルでは, 8-12 週齢の雄マウスに対して 1 個体あたり 100 μg の LPS (O111:B4) を投与して, 投与後 24 h, 72 h, 120 h, 168 h の時点で解剖し評価した. また, ヒトの血中 AIM 濃度の検討では, 北海道大学病院受診者 54 名の血漿を検体として ELISA 法により AIM 濃度を測定, never smoker (N = 18), healthy smoker (N = 16), COPD smoker (N = 20) の 3 群に分けて解析した.

【結果】ブレオマイシン経気道投与モデルでは, day 14 において Ashcroft's score で定量した肺の線維性変化が AIM-KO マウスで有意に抑制された. 同時に測定した肺組織の hydroxyproline 含量も統計学的有意差はつかなかったものの同様の傾向が認められた. タバコ煙曝露モデルにおいては, 16 週間曝露後において AIM-KO マウスでは MLI による定量での肺の気腫性変化が軽減した. また, WT マウスではタバコ煙曝露 16 週で血清 AIM 濃度が有意に上昇した. 4 週間以下の短期タバコ煙曝露においては, AIM-KO マウスでは WT マウスで散見されるような BAL 液中の好中球数の増加が抑制され, また炎症関連遺伝子発現も抑制された. LPS 経気道投与モデルでは, 投与後 72 h と 120 h とにおいて BAL 液細胞分画と肺組織像の双方において AIM-KO マウスでは炎症性変化の軽減が認められた. 一方で, ヒト血漿サンプルでの血中 AIM 濃度測定においては, healthy smoker と比して COPD smoker では有意に高値となった.

【考察】ブレオマイシン経気道投与モデルの結果は AIM がブレオマイシン誘導性肺線維症の病態の修飾因子となっている可能性を示唆しており, 各時相における各種パラメータの差異をみる

限り AIM の作用は炎症性細胞の挙動への影響が主体となっている可能性が高いものと推測される。タバコ煙曝露モデルにおける結果は AIM がタバコ煙の刺激により誘導される好中球性炎症を主体とする炎症と肺の気腫化の増悪因子となっている可能性を示唆する。LPS 経気道投与ALI/ARDS モデルにの結果については、AIM の存在により LPS が生体内に保持されやすくなる結果炎症が増強している可能性、エンドサイトーシスを経て cytosol に到達した AIM が TLR4 のシグナル伝達経路以降を修飾している可能性、さらに TLR4 非依存性にインフラマソームが活性化される機構への修飾の可能性が考えられる。また、本研究のタバコ煙曝露モデルと LPS 経気道投与モデルの結果ならびに過去に報告されている COPD 病態におけるタバコ煙成分中の LPS の関与の可能性をあわせて考慮すると、AIM の有無による LPS への応答の差異がタバコ煙曝露による肺の炎症と気腫性病変の程度の差異に関連している可能性がある。また、タバコ煙成分中に LPS 以外にも AIM と親和性が高い化学種が存在して病態に寄与している可能性がある。ヒト血中 AIM 濃度の各群の差については、一つには喫煙による血中 AIM 濃度の低下の可能性と解釈され、さらにこの血中濃度の低下は産生レベルの低下、あるいは排出または分解の速度の上昇、の 2 通りの可能性が考えられる。また COPD 患者群での高値については、喫煙習慣があっても AIM が低下しないヒトは COPD の疾患感受性が高い、COPD 病態が AIM の上昇に寄与、あるいは交絡因子により両者が相関している、の 3 つの仮説が立てられ、マウス実験でタバコ煙曝露後の血清 AIM 濃度に有意な上昇がみられたことはこれらのうち一つ目の仮説に沿っている。AIM の生体への作用の強さについては、AIM の血中濃度と各種標的細胞による AIM 取り込み能の両者の

影響を受ける可能性がある。

【結論】本研究は、炎症性肺疾患のそれぞれにおいて AIM が増悪因子として寄与する可能性を示すとともに、AIM の呼吸器病態における創薬ターゲットならびに疾患感受性と病態のバイオマーカーとしての可能性を示唆するものである。