

論文内容要旨

論文題目

高ホモシステイン血症は小胞体ストレス誘導アポトーシスを介して喫煙曝露による肺胞上皮細胞の細胞死を増加させ、肺の気腫性変化を増強する。

責任講座：内科学第一講座

氏 名：中野 寛之

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】慢性閉塞性肺疾患（Chronic obstructive pulmonary disease; COPD）は全世界における死因の第3位を占める。COPDの主な原因は喫煙であるが、COPDを発症するのは喫煙者の一部である。そのため、COPDの発症には喫煙感受性が関与していることが想定されるが、喫煙感受性の危険因子は明らかになっていない。当教室における疫学研究では、高ホモシステイン血症は一般住民の男性喫煙者における呼吸機能低下を予測する独立した危険因子であった。ホモシステインは細胞における小胞体ストレスとそれに続くアポトーシスに関わる。これらの知見から、高ホモシステイン血症によって誘導される小胞体ストレスが喫煙感受性に関与し、喫煙曝露による肺の気腫性変化を増強させるという仮説を立て、検証した。

【方法】1%メチオニン水の経口投与によって高ホモシステイン血症を誘導したC57BL/6雄マウスに6か月間の喫煙曝露を行い、肺の気腫性変化を組織学的に評価した。また、ヒト肺胞上皮細胞株であるA549細胞をホモシステインとタバコ抽出液を加えて培養した後に、Annexin VとPropidium iodide染色を用いてアポトーシスを起こした細胞の割合を評価し、ウェスタンブロッティングで小胞体ストレスに関連する蛋白質の発現を評価した。

【結果】1%メチオニン水を経口投与したマウスの血漿ホモシステイン値は有意に上昇していた。高ホモシステイン血症のみでは肺気腫は誘導されなかったが、高ホモシステイン血症を誘導して喫煙曝露を行った群の肺標本では、喫煙曝露単独群と比較して平均肺胞間距離が有意に増加しており、気腫性変化が増強していた。アポトーシスを起こしたA549細胞の割合は、ホモシステインとタバコ抽出液の同時刺激によって、それぞれの単独刺激と比較して有意な増加を示した。小胞体ストレスに関連する蛋白質であるGlucose-regulated protein (GRP78)、Phospho inositol requiring enzyme-1 α (p-IRE1 α)、Phospho eukaryotic initiation factor 2 (eIF2)、C/EBP homologous protein (CHOP)はホモシステインとタバコ抽出液の同時刺激によって有意に発現が増加した。そして、これらの蛋白質の発現はビタミンB12と葉酸を投与することによって有意に減少した。

【結論】高ホモシステイン血症は小胞体ストレス誘導アポトーシスを肺胞上皮細胞に起こし、喫煙による肺気腫を悪化させた。高ホモシステイン血症は喫煙感受性に関与する可能性が考えられ、COPDの発症および増悪に関わる因子として治療標的になり得ることが示唆される。

2019 年 12 月 27 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：中野寛之

論文題目：高ホモシステイン血症は小胞体ストレス誘導アポトーシスを介して喫煙暴露による肺胞上皮細胞の細胞死を増加させ、肺の気腫性変化を増強する

審査委員：主審査委員

工谷 順孝 (印)

副審査委員

三井 哲夫 (印)

副審査委員

今田 恒夫 (印)

審査終了日： 2019 年 12 月 26 日

【 論文審査結果要旨 】

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は世界的に死因の第 3 位を占める重要な疾患である。主な原因は喫煙であるが、喫煙者の一部にのみしか発症しないため、喫煙感受性因子の探索が大きな課題となっている。以前、中野氏らの教室では喫煙継続者において高ホモシステイン血症が COPD 発症の危険因子であることを明らかにした。ホモシステインは細胞における小胞体ストレスからアポトーシスを惹起することが知られている。中野氏は、高ホモシステイン血症による小胞体ストレスが喫煙暴露による肺の気腫性変化に関与するという仮説をたて、マウスモデルと細胞実験により検証した。

はじめに、1%メチオニン水をマウスに 6 か月間経口投与し、高ホモシステイン血症が発症することを確認した後、肺の気腫性変化を組織学的に評価した。平均肺胞間距離を客観的評価指標として用い、高ホモシステイン血症下に喫煙暴露したマウスでより高度な気腫性変化が起きていることを示した。続いて、ヒト肺上皮細胞株である A549 細胞を用いた細胞実験では、ホモシステインとタバコ抽出液の同時添加によりアポトーシスが惹起されることを見いだした。また、ホモシステインとタバコ抽出液の同時添加により、小胞体ストレスマーカーである GRP78、p-IRE1、p-eIF2 α の発現亢進と同時に、アポトーシスマーカーである CHOP の発現が亢進し、小胞体ストレスによるアポトーシスの可能性を示した。さらに、ホモシステインを低下させる作用を有する VB12 と葉酸を添加することで、小胞体ストレスマーカーとアポトーシスマーカーの発現低下を認めた。これらから、喫煙暴露下での高ホモシステイン血症による肺の気腫性変化を、VB12 と葉酸投与により抑制し得ることを示した。

本研究で中野氏は、これまでの疫学的知見を動物モデルや分子生物学の手法を用いて検証することを試みた。特に、ホモシステインによる小胞体ストレス関連アポトーシスに注目した実験系での検討を行った。喫煙感受性因子であるホモシステインの生物学的な作用の一つが小胞体ストレス後のアポトーシスによることを初めて示したこと、そして COPD 予防としての VB12 と葉酸投与の可能性から将来に向けた臨床研究の方向性を示したことから、本研究は高い医学的意義を有しているといえる。適切な実験手法と結果の解釈、論理的考察がなされており、学位を授与する論文に値すると判断した。尚、論文タイトル、英文、図表、その他審査時に指摘された箇所の修正を行うことを条件とする。