

論文内容要旨

論文題目 **Effects of Ethanol on LPS-induced COX-2 and iNOS Expressions
in Rat Alveolar Macrophages**

責任講座：循環器・呼吸器・小児外科学分野講座

氏 名： 加藤 博久

【内容要旨】

【背景】急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) 発症の誘発要因の一つに飲酒過多が挙げられている。肺胞マクロファージ (AM) は肺胞内免疫細胞の大部分を占め ARDS の病態において重要な役割を果たす。cyclooxygenase 2 (COX-2) 及び inducible nitric oxide synthase (iNOS) はエンドトキシン等の刺激により誘導され ARDS の病態にも関与しているが、COX-2 及び iNOS の発現へのエタノールの作用は明らかでない。そこで、本研究ではラット AM を用いて LPS 刺激時の COX-2 及び iNOS 発現に対するエタノールの影響を検討した。

【方法】<in vitro の検討> Wistar 系雄性ラットの肺胞洗浄液を回収し AM を LPS、エタノール、MAPKs 阻害剤 (SB203580, U0126) を含んだ DMEM で培養した。<ex vivo の検討> (急性実験) アルコール投与群ラットにはエタノールを、対照群には同量の PBS を腹腔内投与した。(慢性実験) アルコール投与群ラットにはエタノール含有液体飼料を、対照群には等カロリー液体飼料を食餌し 12 週間飼育した。肺胞洗浄により AM を単離し LPS 刺激した。COX-2、iNOS 及び MAPKs の発現は Western Blotting により、PGE₂、nitrite の産生はそれぞれ ELISA、Griess 法により検討した。

【結果】<in vitro の検討> COX-2、リン酸化 MAPKs (p38, ERK1/2) の発現及び PGE₂ 産生はエタノールにより濃度依存的に抑制されたが、iNOS 発現はエタノールの影響を受けなかった。nitrite 産生は 200 mM のエタノールでのみ抑制された。U0126 投与下で COX-2 及び iNOS は共に有意に抑制されたが、SB203580 投与下では抑制されなかった。<ex vivo の検討> (急性実験) 対照群と比しアルコール投与群では COX-2、iNOS 蛋白の発現、及び PGE₂、nitrite 産生は有意に抑制され、MAPK のリン酸化も抑制された。(慢性実験) 対照群に比しアルコール投与群では COX-2 の発現は有意に抑制された。iNOS 蛋白の発現には両群間で差は認められなかった。エタノールによる COX-2 抑制の耐性も認められなかった。

【考察・結論】AM では LPS による COX-2 発現はアルコールにより抑制された。一方、iNOS 発現はアルコール急性投与時にのみ抑制された。COX-2 発現は iNOS に比べエタノールによる抑制を受け易かった。アルコールによる ARDS の発症リスクにはアルコールの COX-2 発現抑制効果による免疫抑制機序が関与し、その機序には ERK1/2 のリン酸化抑制が関与する可能性が示唆された。また、iNOS 発現の細胞内情報伝達経路は COX-2 発現の場合と異なることが示唆された。

平成 17 年 / 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

申請者名： 加藤博久

論文題目： Effects of Ethanol on LPS-induced COX-2 and iNOS Expressions in Rat Alveolar Macrophages (ラット肺胞マクロファージにおける COX-2 および iNOS 発現へのエタノールの影響)

審査委員：主審査委員

川 前 金 幸



副審査委員

一 瀬 白 希



副審査委員

八 巻 通 安



審査終了日：平成 17 年 / 月 5 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

本論文は ARDS の発症に中心的役割を担う肺胞マクロファージ (AM) を用い、エンドトキシン (LPS) 刺激時の cyclooxygenase2 (COX-2) 及び inducible nitric oxide synthase (iNOS) 発現に対するエタノールの影響を検討したものである。

【*in vitro* の検討】 Wistar 系雄性ラットの肺胞洗浄液を回収し AM を LPS、エタノール、MAPKs 阻害剤 (SB203580, U0126) を含んだ DMEM で培養した。COX-2、リン酸化 MAPKs (p38, ERK1/2) の発現及び PGE₂ 産生はエタノールにより濃度依存的に抑制されたが、iNOS 発現はエタノールの影響を受けなかった。nitrite 産生は 200mM のエタノールでのみ抑制された。U0126 投与下で COX-2 及び iNOS は共に有意に抑制されたが、SB203580 投与下では抑制されなかった。

【*ex vivo* の検討】 (急性実験) アルコール投与群ラットにはエタノールを、対照群には同量の PBS を腹腔内投与した。対照群と比しアルコール投与群では COX-2、iNOS 蛋白の発現、及び PGE₂、nitrite 産生は有意に抑制され、MAPK のリン酸化も抑制された。(慢性実験) アルコール投与群ラットにはエタノール含有液体飼料を、対照群には等カロリーの液体飼料を食餌し 12 週間飼育した。肺胞洗浄により AM を単離し LPS 刺激した。COX-2、iNOS 及び MAPKs の発現は Western Blotting により、PGE₂、nitrite の産生はそれぞれ ELISA, Griess 法により検討した。対照群に比しアルコール投与群では COX-2 の発現は有意に抑制された。iNOS 蛋白の発現には両群間で差は認められなかった。エタノールによる COX-2 の抑制の耐性も認められなかった。

AM では LPS による COX-2 発現はアルコールにより抑制された。一方、iNOS 発現はアルコール急性投与時にのみ抑制された。COX-2 発現は iNOS に比べエタノールによる抑制を受け易かった。アルコールによる ARDS の発症リスクにはアルコールの COX-2 発現抑制効果による免疫抑制機序が関与し、その機序には ERK1/2 のリン酸化抑制が関与する可能性が示唆された。また、iNOS 発現の細胞内情報伝達経路は COX-2 発現の場合と異なることが示唆された。

以上の研究成果は ARDS の誘発因子であるアルコールの機序について検討した独創性の高い研究である。事実、本研究成果は Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology に掲載されている。本論文に対し審査委員会は研究方法も適切であり、非常に優秀な論文であると評価し博士論文に相応すると認定した。

(1200 字以内)