

論文内容要旨

論文題目

Oxidized phospholipid, 1-palmitoyl-2-(9'-oxo-nonanoyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PON-GPC), produced in the lung due to cigarette smoking, impairs immune function in macrophages

(酸化リン脂質、1-palmitoyl-2-(9'-oxo-nonanoyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PON-GPC)、は喫煙により肺に産生され、マクロファージの免疫能を障害する)

責任講座： 内科学第一 講座

氏 名： 木村 友美

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】 喫煙は肺感染性疾患の危険因子である。原因の一つとして肺胞マクロファージの免疫能低下が報告されているが、その機序は十分解明されていない。肺サーファクタントは、リン脂質、1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC) を主要な構成成分とし、肺胞の表面張力を減らして虚脱を防ぐ役割をもつ。酸化リン脂質、1-palmitoyl-2-(9'-oxo-nonanoyl)-*sn*-glycero-3-phosphocholine (PON-GPC) は、酸化ストレスによりリン脂質の側鎖の一部が解離することで生じる脂質である。しかし、喫煙により PON-GPC が増加するかどうかという点や、PON-GPC がマクロファージにどのような効果を及ぼすかという点に関する報告はこれまで成されていなかった。

【目的】 喫煙により肺内 PON-GPC が増加するかどうか、PON-GPC はマクロファージの免疫能を変化させるかどうかを評価する。

【方法】 喫煙暴露 (2 本/日、5 日/週、2 週間) したマウスより、気管支肺胞洗浄液 (BALF) を回収し、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法により PON-GPC の濃度を測定した。マウスのマクロファージ細胞株、RAW264.7 細胞を用い、前処置として 20-40 μ M の DPPC または PON-GPC を含む培養液で 48 時間培養した。その後、LPS (100 ng/ml) と IFN- γ (400 U/ml) で刺激し、ELISA、ウエスタンブロットなどにより TNF- α の産生とそのシグナル経路、活性酸素種 (NO と NADP⁺/NADPH) の産生を解析した。さらに、前処置した RAW264.7 細胞を大腸菌と培養し、その殺菌能に及ぼす影響を評価した。

【結果】 BALF 中の PON-GPC の濃度は非喫煙マウスと比べ、喫煙マウスで有意に上昇していた。PON-GPC で前処置した RAW264.7 細胞は TNF- α の産生が低下しており、そのシグナル経路である p38 MAPK のリン酸化が抑制されていた。活性酸素種は PON-GPC の前処置により産生が抑制された。さらに PON-GPC は大腸菌の殺菌能も抑制した。

【結論】 タバコ煙は肺中に PON-GPC を増加させた。PON-GPC はマクロファージに対し炎症サイトカインと活性酸素種の産生を抑制した。その結果、マクロファージの殺菌能が抑制されると考えられた。本研究により、喫煙による肺胞マクロファージの免疫能低下に、PON-GPC が関与していることが示唆された。

平成 22 年 1 月 8 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： 木村 友美

論文題目： Oxidized phospholipid, 1-palmitoyl-2-(9'-oxo-nonanoyl)-glycerophosphocholine (PON-GPC), produced in the lung due to cigarette smoking, impairs immune function in macrophages

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信 

副審査委員 鈴木 民夫 

副審査委員 山川 光徳 

審査終了日：平成 22 年 1 月 7 日

【 論文審査結果要旨 】

喫煙は肺感染性疾患の危険因子であり、その原因の一つとして肺胞マクロファージの機能低下が報告されている。木村友美君はそのマクロファージの機能低下に肺サーファクタントから生ずる酸化リン脂質1-palmitoyl-2-(9'-oxo-nonanoyl)-glycerophosphocholine (PON-GPC)が関わっているのではないかと考え、以下の研究を進めた。

1) 喫煙が肺のPON-GPCを増加させるのかどうか、マウスを用いて解析した。2週間喫煙曝露したマウスの気管支肺胞洗浄液を回収し、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法によりPON-GPC濃度を測定した。その結果、非喫煙マウスに比較して喫煙マウスでは有意にPON-GPC濃度が上昇していた。

2) PON-GPCがマクロファージの機能に影響を与えるのかどうか、マクロファージ培養細胞株 (RAW264.7細胞) を用いて解析した。PON-GPCあるいは対照として、肺サーファクタントの主要成分であるdipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC)を48時間処理した細胞をLPSおよびIFN- γ で刺激した。その結果、PON-GPC処理した細胞では、TNF- α や活性酸素種 (NOとNADP⁺/NADPH) の産生が減少していた。また、LPSやIFN- γ の下流の情報伝達分子としてMAPキナーゼやSTATの活性化を調べたところ、p38MAPKの活性化のみがPON-GPC処理により抑えられることが明らかとなった。さらにPON-GPC処理したマクロファージでは、大腸菌の殺菌能の低下も認められた。これらの結果から、PON-GPCはp38MAPKの経路を抑制することによりTNF- α や活性酸素種の産生を抑制し、殺菌能の低下をもたらしている可能性が示された。

以上の研究結果から、喫煙は肺でのPON-GPC濃度を上昇させること、PON-GPCはマクロファージの機能を、主にp38MAPK経路を抑制することにより低下させることが明らかとなった。in vitroの実験に使用したマクロファージの細胞株やPON-GPC濃度など、さらなる検討が望ましい部分も見られたが、関連する事項についての質疑応答も的確であり、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与に値するものであると判定した。

(1, 200字以内)