

# 論文内容要旨

論文題目

Leukocytes' fractionations in lung-specific CCL1 overexpression mice

(肺特異的 CCL1 高発現マウスにおける生体内白血球分画の検討)

責任講座： 内科学第一 講座

氏名： 岸 宏幸

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者において、COPD急性増悪は罹患率、致死率ともに高い疾患であり、気道感染はこの主たる原因である。当教室では以前、COPD患者における急性増悪の頻度と予後に、chemokine C-C motif ligand 1 (CCL1) 遺伝子変異が関与していることを報告し (Takabatake N, et al. Am J Respir Crit Care Med. 2006)、CCL1が免疫機能に深く関与しているのではないかと推測した。CCL1は、活性化した単球・マクロファージ、リンパ球などから産生され、好中球やマクロファージなど炎症性細胞の遊走を促進するケモカインであるが、肺におけるCCL1の免疫機能について詳細に検討した報告はない。

【方法】SP-Cプロモーターを利用して、肺組織特異的にCCL1を高発現させた遺伝子改変マウス (SPC-CCL1 Tg マウス) を作成し、外観、臓器組織像、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の細胞分画などについて検討した。CCL1過剰状態でのBALF中の肺胞マクロファージについては、F4/80、CD11bの表面抗原の発現を、フローサイトメトリー (FCM) を用いて解析した。また、胸腺、脾臓、血液中のCD4/CD8リンパ球分画についてもFCMを用いて解析した。このSPC-CCL1 Tgマウスに対し、気管内LPS投与による急性肺傷害モデルを作成し、肺組織およびBALFを解析した。

【結果】SPC-CCL1 Tgマウスは、WTマウスに比べ、BALF中のCCL1濃度および臓器でのSPC-CCL1遺伝子発現が高値であることを確認した。しかし、外観や生存率、臓器組織像に大きな差は認めなかった。BAL細胞所見では、WTマウスに比べ、Tgマウスにおいて、総細胞数が減少しており (Tg mice:  $1.37 \pm 0.52 \times 10^4/\text{ml}$ , WT mice:  $2.00 \pm 0.73 \times 10^4/\text{ml}$ ,  $P=0.0097$ )、分画では肺胞マクロファージが減少していた。FCMによるBALF中の肺胞マクロファージ表面抗原解析において、Tgマウスでは、F4/80陽性細胞の数が、WTマウスに比べ低値であった (Tg mice:  $31.8 \pm 4.8\%$ , WT mice:  $39.6 \pm 3.1\%$ ,  $P=0.0278$ )。SPC-CCL1 Tgマウス急性肺障害モデルでは、BALF中に好中球、マクロファージなどの炎症細胞の上昇を認めたが、WTマウスと比べ、病理組織像、BAL所見に差異は認められなかった。

【結論】生体内において、肺におけるCCL1過剰状態は、無刺激の状態でも肺胞マクロファージの数および表面抗原の発現に影響を与えていることが示唆された。このことは、LPSによる炎症刺激では炎症細胞の浸潤に大きな差をもたらさなかったものの、他の炎症刺激に対する予備刺激となっているのではないかと推察された。

平成 24 年 1 月 23 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：岸 宏幸

論文題目：Leukocytes' fractionations in lung-specific CCL1 overexpression mice.  
(肺特異的 CCL1 高発現マウスにおける生体内白血球分画の検討)

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信 (蓋)

副審査委員 中島 修 (蓋)

副審査委員 柴田 陽光 (蓋)

審査終了日：平成 24 年 1 月 10 日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者における気道感染は COPD の急性増悪の主な要因となる。申請者のグループでは COPD 急性増悪の頻度や予後に CCL1 ケモカインの SNP が関与していることを報告している。CCL1 は各種免疫細胞の遊走を誘導することから、CCL1 の産生異常が COPD 急性増悪に関わっていることが示唆されるがそのメカニズムは不明である。申請者は CCL1 の異常産生が COPD の急性増悪にどのように影響するのかを調べるため、以下の研究を行った。

CCL1 を肺組織特異的に高発現する遺伝子導入マウス (Tg マウス) を作製し、その影響を調べた。初めに、Tg マウスの肺の組織でのみ導入した CCL1 遺伝子からの転写産物が検出され、目的とする遺伝子型のマウスが作製されていることを示した。さらに Tg マウスの BAL および血清中の CCL1 を測定すると、CCL1 蛋白が高濃度で検出された。通常の飼育環境で、Tg マウスでは野生型に比べ、外観、出生率、生存率、肺をはじめ、各種臓器の組織像に大きな差を認めなかった。BAL 細胞所見では、予想に反して総細胞数の減少、特に F4/80 陽性の肺胞マクロファージ数が減少していた。次に気道炎症モデルを用いて CCL1 の過剰発現の影響を調べた。気管内へ LPS を投与し、マウスに急性肺障害を発症させ 6 時間から 72 時間後の BAL および肺の組織を解析した。その結果、野生型と Tg マウスでは BAL 内の炎症細胞数や肺組織の炎症像に大きな差を認めなかった。

以上の研究から、肺組織での CCL1 過剰発現が LPS 投与による急性気道炎症に及ぼす影響を検出することは出来なかったものの、無刺激状態での BAL 中 F4/80 陽性マクロファージの減少など炎症細胞に何らかの影響を与えていることが確認された。今後細菌感染など様々な刺激をこの Tg マウスに加えることにより、CCL1 と COPD 急性増悪との関係が明らかにされることが期待される。データの提示や導入部の記載内容など、いくつか修正すべき点が審査会で指摘されたが、最終的に適宜修正された論文が提出された。関連する事項についての質疑応答も的確であり、本審査会は本研究が博士 (医学) の授与に値すると判定した。

(1, 200 字以内)