

氏名(本籍)	もちつきみえ 望月美恵(埼玉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3466号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	転写因子 Nrf2 を介した 15 deoxy Δ^{12-14} -prostaglandin J2 による急性炎症の制御について
主査	筑波大学教授 医学博士 榊原 謙
副査	筑波大学教授 薬学博士 熊谷 嘉人
副査	筑波大学助教授 医学博士 宮部 雅幸
副査	筑波大学講師 医学博士 石川 成美

論文の内容の要旨

(目的)

酸化ストレスは種々の炎症性疾患の病態形成に関与する。転写因子 Nrf2 を介する転写調節系は新たな酸化ストレス防御機構として近年注目されている。一方 15 deoxy Δ^{12-14} Prostaglandin J2 (15d-PGJ2) は抗炎症性のプロスタグランジン類として知られ、その機序として PPAR γ の活性化、I κ B kinase の抑制などがこれまでに報告されてはいるが詳細は不明である。Nrf2、15d-PGJ2 とともに hemeoxygenase-1 (HO-1)、peroxiredoxin (Prx) などの抗酸化ストレス酵素の発現を誘導しうることより、抗炎症作用に際し両者の間には何らかの関与があるものと考えられる。本研究では培養細胞系において両者の関係を明らかにするとともに、急性炎症の制御に関する役割についてマウス胸膜炎モデルおよび急性肺傷害モデルにおいて検討した。

(対象と方法)

実際には野生型マウスおよび同系の Nrf2 欠損マウスを用いた。マウスより腹腔マクロファージを採取・培養後、15d-PGJ2 を含む種々のプロスタグランジン類を添加し Nrf2 標的遺伝子の発現を比較した。また同マクロファージより核を抽出し、15d-PGJ2 投与後の Nrf2 の活性化について調べた。さらに免疫沈降法により 15d-PGJ2 と Keap1 との関係について調べた。次に野生型および Nrf2 欠損マウスの右胸腔内に、0.25% λ カラゲニンを注入し急性胸膜炎モデルを作成した。注入後 2, 6, 12, 24, 48, 72 時間および 7 日後に胸腔内洗浄を行い、各洗浄液中の細胞数、細胞分画、アルブミン濃度を測定するとともに回収細胞中の Nrf2 標的遺伝子の発現を比較した。急性肺傷害モデルではカラゲニンをマウス気管内に投与し、同様に気管支肺胞洗浄液中の細胞数、細胞分画、アルブミン濃度、回収細胞中の Nrf2 標的遺伝子の発現について検討した。両モデルに対し、COX-2 特異的阻害薬である NS-398 を投与し各時点の細胞数、細胞分画、Nrf2 的遺伝子の発現について比較するとともに、さらに 15d-PGJ2 を加えた際の胸膜炎および急性肺傷害における炎症反応、Nrf2 標的遺伝子の発現の変化についても検討した。

(結果, 考察)

15d-PGJ2 を添加することにより, 野生型マウス由来の腹腔マクロファージでは濃度依存的に抗酸化ストレス酵素の発現誘導が認められたが, Nrf2 欠損マウス由来のマクロファージではこれらの発現が有意に低下した。さらに 15d-PGJ2 添加により Nrf2 の著明な核内移行が見られ, 免疫沈降法を用いた検討では 15d-PGJ2 は Keap1 と直接結合することが明らかになった。マウス胸膜炎モデルにおいて, Nrf2 欠損マウスでは野生型マウスに比しカラゲニン投与後 24 および 48 時間で胸腔洗浄液中のアルブミン濃度および好中球数の有意な増加を認め, カラゲニン投与後 72 時間でマクロファージ数が最大となることから, 炎症反応の亢進, 遷延化が生じているものと思われた。両マウスのマクロファージで 15d-PGJ2 の産生が見られたものの, Nrf2 欠損マウスでは同細胞中の抗酸化ストレス酵素の発現誘導が有意に低下していた。NS398 投与群ではマクロファージ中の 15d-PGJ2 産生が抑制され, Nrf2 欠損マウスと同様に胸膜炎の炎症反応の亢進および抗酸化ストレス酵素の発現誘導の低下を認めた。NS398 投与により惹起されたこれらの変化は, 15d-PGJ2 の胸腔内投与で改善した。マウス急性肺傷害モデルでは, Nrf2 欠損マウスで野生型に比しカラゲニン投与 1 および 3 日後に, 気管支肺胞洗浄液中の好中球, およびアルブミン濃度が有意に増加し炎症反応の亢進が認められた。また, 野生型マウスではカラゲニン投与 1 日後の肺胞マクロファージにおいて抗酸化ストレス酵素の発現誘導が見られたが, Nrf2 欠損マウスでは誘導がほとんど見られなかった。NS398 を投与すると肺胞マクロファージでの 15d-PGJ2 および抗酸化ストレス酵素の産生抑制とともに炎症反応の亢進が認められたが, 15d-PGJ2 の気管内投与により回復した。

(結語)

15d-PGJ2 による Nrf2 を介した抗酸化ストレス酵素の誘導は, 急性炎症の抑制に関わる新たな分子経路と考えられた。

審査の結果の要旨

本研究では, 培養細胞系・マウス胸膜炎モデル・マウス急性肺傷害モデルにおいて, 15d-PGJ2 はマクロファージにおいて Keap1 に作用し Nrf2 と Keap1 の結合を解くことにより Nrf2 を活性化することを示した。また, 活性化された Nrf2 は抗酸化ストレス遺伝子の転写誘導を介し胸膜炎および急性肺傷害などの急性炎症に対し抗炎症作用を発揮することをも示した。本 dissertation の内容の一部は, すでに Molecular and Cellular Biology に採用が決定しており, 望月美恵氏は筆頭著者と同等の役割を果たしたことが明記されている。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。