

Title	肺におけるInterleukin-6の抗酸化ストレス作用
Author(s)	木田, 博
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43825
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	木田 ひろし 博
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17633 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	肺における Interleukin-6 の抗酸化ストレス作用
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 吉崎 和幸 教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

【目的】肺はさまざまな傷害に対して Diffuse alveolar damage (DAD) と呼ばれる一連の共通した病理所見を示す。急性期 DAD の特徴は浮腫、硝子膜形成及びそれらに先行する肺胞上皮細胞、血管内皮細胞傷害であり、これらの細胞傷害には酸化ストレスが関わっている。Interleukin-6 (IL-6) は DAD の肺で高レベルに発現していることは従来から報告されているが、その意義については依然不明である。最近 IL-6 は様々な細胞で細胞保護的な役割をもつことが報告されている。DAD における細胞傷害には酸化ストレスが関与し、酸化ストレスは様々な細胞で直接 IL-6 産生を促進させることより、我々は DAD における肺 IL-6 の発現上昇は autocrine あるいは paracrine 機構による肺胞上皮細胞保護作用を目的とした防御的反応ではないかという仮説を立て検討した。

【方法ならびに成績】酸化ストレスによる肺組織傷害を、肺スライス器官培養法を用いて検討した。12~24 週齢の野生型マウスおよび IL6 欠損マウスの肺にアガロースを経気管支的に注入した後、左葉を分離し、スライサーを用い 500 μ m 厚のスライス肺を作製した。スライス肺をトランスウェル®上に移し air-fluid interface で培養した。肺スライス器官培養法は肺組織の 3 次元構造を維持したまま、in vivo に近い条件で酸化ストレスによる肺毒性を評価できる培養法である。野生型マウス肺スライス器官培養において、酸化ストレスが IL-6 mRNA 発現を誘導することを RT-PCR 法にて確認した。スライス肺における、酸化ストレスによる組織傷害 (DNA 断片化) を Ligation mediated (LM)-PCR 法を用いて半定量的に評価したところ、酸化ストレスは野生型マウス由来のスライス肺に比べ IL-6 欠損マウス由来のスライス肺により強い DNA 断片化を誘導した。Terminal deoxynucleotidyltransferase (TdT) mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色法で酸化ストレス負荷後のスライス肺を検討したところ、TUNEL 陽性細胞は野生型マウス由来スライス肺に比べて IL-6 欠損マウス由来のスライス肺において明らかに多く認めた。また TUNEL 陽性細胞はその分布より II 型肺胞上皮細胞を含むことを確認した。そこで II 型肺胞上皮細胞由来株である A549 細胞での検討で検討したところ、IL-6 は酸化ストレスによる細胞傷害に対して保護作用を示すことを trypan-blue 染色法と Annexin V 染色法により確認した。以上より肺局所において IL6 は autocrine あるいは paracrine 機構を通じて肺胞上皮細胞を含めた肺構成細胞を酸化ストレスから保護する働きをもつことが示された。

マウス初代肺線維芽細胞での検討で、酸化ストレスによる IL6 mRNA の発現誘導を northern blot 法で検討した。低血清培養液にブレオマイシンを加えて刺激すると、マウス肺線維芽細胞では細胞内 H₂O₂ レベルはブレオマイシン

濃度依存的に上昇した。この時の IL-6 mRNA 発現レベルは細胞内 H₂O₂ レベルと相関していた。また IL-6 mRNA 発現は N-acetyl-L-cysteine (NAC) を培養液に加えることにより抑制することができた。以上より酸化ストレスが肺構成細胞に対して IL6 誘導作用をもつことが示された。

【総括】今回の検討により、肺局所において IL-6 は autocrine 或いは paracrine 機構を通じて肺胞上皮細胞を含めた肺構成細胞を酸化ストレスによる傷害から保護する働きをもつことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

Diffuse Alveolar Damage (DAD) は臨床急性呼吸促迫症候群 (ARDS)、抗癌剤による肺臓炎、放射線肺傷害、高濃度酸素肺傷害等に共通した病理所見である。DAD は予後不良の病態であり、現在有効な薬物療法は存在しない。病態の理解が進むにつれて、今日の薬物療法はよりターゲットを絞ったものに変貌しつつある。DAD に対する薬物療法も全身的に炎症を抑制するステロイドのような薬剤から、よりターゲットを絞った薬剤開発への移行が急務であると考えられる。本研究は、DAD における肺胞上皮細胞傷害に着目し、肺局所で酸化ストレスにより誘導される IL-6 が酸化ストレスによる肺胞上皮細胞傷害を抑制する働きを持つことを示した。IL-6 により誘導される現象が DAD の新しい治療戦略となりうる可能性を示唆した点が注目される。

新しい器官培養法である肺スライス器官培養法を確立した。この方法では肺の3次元構造を維持したまま、in vivo により近い条件で酸化ストレスによる組織傷害を評価できる。H₂O₂ 添加により、IL-6 欠損マウスのスライス肺では野生型マウスのスライス肺と比べてより強い DNA 断片化が生じた。IL-6 欠損マウスのスライス肺において DNA 断片化を起こしている細胞は II 型肺胞上皮細胞の分布を示した。II 型肺胞上皮細胞株を用いて検討した結果 IL-6 は濃度依存的に II 型肺胞上皮細胞の酸化ストレスによる細胞死を抑制した。また酸化ストレスはスライス肺、初代肺線維芽細胞において IL-6 発現を誘導した。

以上より IL-6 は肺において autocrine 或は paracrine 機構を介して抗酸化ストレス作用をもつ可能性が示唆された。この研究は酸化ストレスに対する肺の内因性防御機構の1つを明らかにしたものであり、よって本研究は、博士(医学)の学位授与に値するものと認める。