

氏 名	アッサン エムディー カイムル AHSAN MD. KAIMUL
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2915 号
学位授与の日付	平成 17 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Thioredoxin - 1 suppresses lung injury and apoptosis induced by diesel exhaust particles(DEP) by scavenging reactive oxygen species and by inhibiting DEP-induced down regulation of Akt (チオレドキシシン 1 はディーゼル排気粒子による肺障害とアポトーシスを活性酸素種の消去および Akt 不活化阻害により抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 三 嶋 理 晃 教 授 武 田 俊 一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

ディーゼル排気ガス粒子 (diesel exhaust particles, DEP) は、生体内において活性酸素種(reactive oxygen species, ROS)を発生させる代表的な環境汚染物質で急性・慢性肺障害、特に慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)や肺がんの危険因子のひとつとされている。チオレドキシシン(thioredoxin, TRX)は、生体内の酸化還元 (レドックス) 状態を調節することにより、様々な酸化ストレスから生体を防御するレドックス制御蛋白である。今回、DEP 急性肺障害防御機構における TRX の役割を解析する目的で、以下の検討をおこなった。

【結果】

ヒト TRX をアクチンプロモーターで全身に過剰発現させたトランスジェニックマウス(TRX Tg マウス)およびその対照マウスとして C57BL/6 を用い、DEP の気管内投与により肺内で発生するヒドロキシルラジカルの産生を *in vivo* L-band electron spin resonance (ESR)を用いて検討した。その結果、TRX Tg マウスでは対照群と比較して、肺内のヒドロキシルラジカルの産生が抑制された。また、その肺組織像を比較した結果、対照群では肺間質への著明な炎症細胞浸潤、浮腫および肺胞の虚脱などの肺障害像を認めたが、TRX Tg マウスでは DEP による肺障害は顕著に抑制されていた。

TRX による DEP 障害防御機構を明らかにするため、ヒト TRX を高発現した L-929細胞 (mouse lung fibrosarcoma) およびコントロール群としてベクターのみを導入した細胞を樹立し、細胞内 ROS 産生、内因性 TRX 誘導、apoptosis を比較した。その結果、対照群では ROS 産生、TRX の発現誘導、apoptosis が亢進していた。さらに anti-apoptotic signal 分子の一つとして知られる Akt のリン酸化について検討したところ、Akt のリン酸化も抑制されていた。一方、TRX 高発現細胞においては、ROS 産生および apoptosis は抑制され、Akt リン酸化の抑制が解除されていた。

次に、TRX 投与により DEP 障害が防御できるかどうかを検討するために、ヒト肺由来細胞 A549細胞を用いて、遺伝子組み換えヒト TRX 蛋白を投与し、DEP による細胞内 ROS 産生、apoptosis、Akt リン酸化を検討した。その結果、TRX 投与でも DEP による ROS 産生および apoptosis は抑制され、Akt リン酸化の抑制も、解除された。また Akt リン酸化阻害剤を添加すると、この TRX による apoptosis 抑制効果は消失したことから、TRX は Akt をレドックス制御することにより DEP 誘導性の apoptosis を防御している可能性が示唆された。

【考察】

本研究において、TRX は DEP による肺障害を抑制することが観察された。その機構として ROS の産生を抑制し、DEP 依存的な Akt リン酸化の抑制を解除することにより apoptosis を抑制することが明らかになった。以上より TRX は急性肺障害の防御・治療に有効な分子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、レドックス制御蛋白チオレドキシン (TRX) によるディーゼル排気ガス粒子 (DEP) 急性肺障害防御メカニズムを明らかにすることを目的とした。ヒト TRX トランスジェニック (TRX Tg) マウスおよび対照 C57BL/6 マウスに DEP を気管内投与し、活性酸素種 (ROS) のひとつであるヒドロキシルラジカルを測定した結果、TRX Tg マウスでは対照マウスと比較し、肺内でのヒドロキシルラジカルの発生が抑制された。肺組織像では、対照マウスでは肺間質への著明な炎症細胞浸潤、浮腫および肺胞の虚脱などの肺障害を認めたが、TRX Tg マウスではこれらの肺障害像は極めて軽度であった。ヒト TRX 過剰発現細胞あるいは遺伝子組み換えヒト TRX 投与による *in vitro* の研究では、TRX は、DEP 投与による細胞内 ROS 発生および細胞の apoptosis を抑制し、抗 apoptosis signal 分子である Akt の不活化すなわちリン酸化低下も阻害した。TRX による抗 apoptosis 効果は、Akt リン酸化阻害剤により消失することから Akt 依存性であることが示唆された。本研究においてはサイトカイン産生などの関与については未検討であり、今後 TRX の標的分子と制御シグナル回路の解明が必要であるが、TRX は、抗酸化作用および抗 apoptosis 作用を示し、急性肺障害の防御・治療に有効な分子である可能性が明らかとなった。

したがって、本研究は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成17年10月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められる。