

平成25年 3月

石川総一郎 学位論文審査要旨

主 査 清 水 英 治
副主査 稲 垣 喜 三
同 梅 北 善 久

主論文

難治性肺線維性疾患の重症化因子に関する検討

(著者：石川総一郎、七條碩、高田美樹、橋本潔)

平成25年 米子医学雑誌 掲載予定

参考論文

1. Difference of health-care associated pneumonia between large hospitals and small hospitals in Japan

(日本における大病院と小病院間の医療ケア関連肺炎の違いについて)

(著者：渡部仁成、加藤和弘、武田賢一、小西龍也、倉井淳、龍河敏行、山本司生、田村啓達、石川総一郎、河崎雄司、森田正人、米田一彦、藤瀬秀親、藤瀬幸、藤瀬一臣、山口耕介、早渕達也、重白啓司、片山覚、千酌浩樹、井岸正、山崎章、長谷川泰之、岡崎亮太、鰐岡直人、清水英治)

平成23年 The Journal of Medical Investigation 58巻 67頁～74頁

学 位 論 文 要 旨

難治性肺線維性疾患の重症化因子に関する検討

難治性肺線維性疾患とは、慢性の経過で肺に不可逆性の線維化が進行し、治療抵抗性を示す予後不良な疾患群の総称である。代表的な疾患として、特発性肺線維症（IPF）、線維性非特異性間質性肺炎（fNSIP）、慢性過敏性肺炎（chronic HP）等が存在する。難治性肺線維性疾患の成因に関しては、長年肺胞壁における過剰な慢性炎症が線維化を惹起すると考えられてきたが、現在では炎症作用を含む様々な要因により肺の線維化が誘導されるという多系統機序説が提唱されている。しかしながら、難治性肺線維性疾患の病態に関しては不明な点が多く、重篤な線維化の鍵を握るタンパク質を網羅的に解析する意義は大きいと考えられる。本研究では、難治性肺線維性疾患の重症化の鍵を握る分子を同定するべく、ブレオマイシン(bleomycin: BLM)誘発肺線維症モデルマウス（BLMマウス）とヒトIPF症例の双方の気管支肺胞洗浄液（BALF）を用いてショットガン法によるプロテオーム解析を行った。

方 法

実験動物としてBLMマウス及びネガティブコントロールマウス（NCマウス）を作成し、一定期間飼育した後に屠殺し、気管支肺胞洗浄（BAL）を行った。また、肺組織を採取しHE染色標本を作製し、肺の線維化を評価し、BLMマウスのうち線維化の異なる雄4匹、雌4匹を実験に用いた。NCマウスは性別、週齢、体重などを合致させたマウスを選択した。IPF症例は当院でIPFと診断され、BALが施行された6症例を解析対象とし、年齢、性別、喫煙歴を合致させたサルコイドーシス（サ症）症例を対照検体とした。BLMマウス及びIPF症例のBALFを用いてLC/MS/MSによるショットガンプロテオーム解析を行い、得られたデータを用いてProtein Pilotソフトウェアによるタンパク質の同定と発現量の比較を行った。得られた結果より肺線維化重症化関連タンパク質を同定した。難治性肺線維性疾患14症例の外科的肺生検組織を用いて、肺線維化重症化関連タンパク質と判断したComplement C3及びSerotransferrinに対して免疫組織学的検討を行った。

結 果

BLMマウスとNCマウスのプロテオーム解析を行い、雄、雌それぞれでBLMマウスにおいて

有意に高発現または低発現しているタンパク質を選別し、性差による影響を排除するため両群で共通するタンパク質をマウスにおける性別にかかわらず肺線維症重症化関連タンパク質とした。IPF症例とサ症症例でもプロテオーム解析を行い、6対の比較においてIPF症例で有意に高発現または低発現しているタンパク質を選別し、2対間以上で再現性を持って有意差を認めるタンパク質をヒトにおける肺線維化重症化関連タンパク質とした。最後に、マウスとヒトの結果に共通していたComplement C3とSerotransferrinを、動物種に関わらず肺線維症の重症化に関連するタンパク質であると判断した。Complement C3とSerotransferrinは、BLMマウスでは高発現を示し、IPF症例では低発現を示した。次に外科的肺生検組織を用いて、Complement C3とSerotransferrinの免疫組織化学的検討を行った。Serotransferrinは評価困難であったが、Complement C3は陽性例8例、陰性例6例であり、Kaplan-Meier法を用いた生存分析においてComplement C3陰性例は陽性例と比較して有意に予後不良であった($p = 0.042$)。

考 察

BLMマウスは従来肺線維症のモデルとして頻用されているが、その成立過程はまぎれもなく薬剤により誘発した肺の炎症であると考えられ、今回の解析におけるBLMマウスのBALF中Complement C3の高値は、肺に炎症が惹起され、続いて線維化病変を形成する過程における高発現であると考えられる。近年の研究でComplement C3とIFN- γ の間に正の調節機構の存在が報告されており、IPF症例におけるComplement C3の低発現は、IFN- γ の低発現を惹起し、Th1/Th2バランスをTh2優位の不均衡に陥らせ、肺の線維化を助長する可能性が考えられる。また、難治性肺線維性疾患患者の外科的肺生検組織における免疫組織化学的検討からは、難治性肺線維性疾患における気道上皮細胞におけるComplement C3の高発現は生命予後の悪化を抑制している可能性が考えられた。その理由としては、第一にComplement C3の免疫防御機構が挙げられ、第二にIFN- γ などを介してComplement C3が肺線維化抑制作用を有している可能性が想起された。

結 論

難治性肺線維性疾患症例の肺におけるComplement C3の抑制状態は、患者の生命予後に重大な悪影響を与える可能性がある。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウス（BLMマウス）とヒトIPF症例の双方の気管支肺胞洗浄液（BALF）を用いてショットガン法によるプロテオーム解析を行い、さらにIPF症例の生検肺組織を用いて免疫組織学的検討を行ったものである。その結果、肺線維症重症化にComplement C3とSerotransferrinの関与が示唆され、特にComplement C3の組織における発現低下がIPF患者の予後の悪化に関連することが判明した。本論文の内容は、難治性肺線維性疾患を含めた分子呼吸器病学の分野で、Complement C3の肺組織における発現低下を予防することが、IPF患者の予後改善に有用であることを示唆するものであり、明らかに学術水準を高めたものと認める。