HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)/CD5Lの慢性閉塞性肺疾患における役割に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	佐藤, 理子
Description	配架番号：2806
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15646号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90958
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SATO_Michiko_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　　氏名　佐　藤　理　子

学位論文題名

Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)/CD5L の慢性閉塞性肺疾患における役割に関する研究
（Studies on the role of Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)/CD5L
in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease）

【背景と目的】 慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) は主にタバコ煙によって発症し，気流閉塞，肺気腫，気道炎症を特徴とする．World Health Organization (WHO) の調査では世界の死因第 3 位であり，公衆衛生上の多大な負荷となっている．本邦においても有病率 8.6%，患者数約 530 万人と推定され，今後高齢化が加速する社会において益々大きな問題となることが予想される．気管支拡張薬吸入，呼吸不全に対しては酸素投与などの対症療法が行われているが抜本的な治療法はなく，病態の解明および新規治療開発が切実に望まれる．Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM)/ CD5 molecule-like (CD5L) は血清に 5 μg/ml 程度存在する分泌タンパクである．血中では主に immunoglobulin (Ig)M の 5 量体と結合して存在し，その濃度は IgM と相関する．AIM は各種細胞のアポトーシス抑制のほか腎尿細管での老廃物排泄，脂肪酸分解，T helper 17 (Th17) 細胞の病態制御スイッチなどの様々な機能が判明している．生体内において病態促進的・抑制的の両者の作用が知られているが，当教室の過去の研究では，呼吸器疾患において促進的に作用していた．現時点で COPD の病態における AIM の役割に関しては報告が少ないが，既報では COPD 患者で肺胞マクロファージの生存維持に関与し，マウスモデルにおいては AIM の過剰発現で肺気腫が誘導された．この度 AIM が COPD の病態に促進的に作用すると仮説を立て実験を行った．

【材料と方法】

1. 豚膵臓由来エラスターゼ (porcine pancreas elastase: PPE) 誘導肺気腫モデルマウス
   野生型または AIM 欠損の雄 C57BL/6J マウスに 0, 7, 14 日目に PPE を気管内投与して 21 日目に安楽死させ，気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage: BAL) 液を採取して BAL 液の炎症細胞数，Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) 法にてタンパク量を評価した．肺組織中の遺伝子発現は real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で評価した．さらに肺組織の mean linear intercept (MLI) 算出により肺気腫形成，TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色と cleaved caspase-3 染色により細胞死を評価した．
2. 喫煙 (cigarette smoke: CS) 誘導肺気腫モデルマウス
   野生型または AIM 欠損の雄 C57BL/6J マウスに 1 日 1 回，週 5 回喫煙曝露装置にてタバコの主流煙を曝露し，16 週後に安楽死させて肺気腫形成，細胞死を評価した．
3. タバコ抽出液 (cigarette smoke extract: CSE) によるマウス肺胞マクロファージ刺激
   野生型または AIM 欠損の雄 C57BL/6J マウスに BAL を行い，BAL 液中から肺胞マ

クロファージを採取した. またタバコの主流煙から CSE を精製し, 肺胞マクロファージを CSE で刺激し培養した. AIM 欠損マウスから得た肺胞マクロファージの一部はマウスリコンビナント AIM も添加した. 6, 12, 24 時間後に細胞と培地を回収し, matrix metalloproteinase (MMP)-12 の遺伝子とタンパクの発現量を評価した.

4. 様々な喫煙ステータスの患者における血漿 AIM/IgM 値の評価
   北海道大学病院に通院する患者のうち非喫煙者, 健康な喫煙者, COPD 患者の 3 群計 50 人において血漿 AIM/IgM 値を評価した.
5. 北海道 COPD コホート研究の患者における血清 AIM/IgM 値の評価
   北海道 COPD コホート研究の参入患者のうち, データ利用可能であった 133 人の血清 AIM/IgM 値および重症度, 予後を解析した.

【結果】　PPE 誘導肺気腫マウスでは, AIM 欠損マウスにおいて BAL 液で評価した肺内の炎症と肺気腫形成, TUNEL 染色で評価した細胞死が野生型マウスより抑制された. cleaved caspase-3 で評価したアポトーシスについては AIM 欠損マウスにおいてやや減少傾向にあったものの有意差に至らなかった. また MMP-12 と interleukin (IL)-33 について, BAL 液中のタンパクと肺内の遺伝子発現が両方 AIM 欠損マウスにおいて抑制されていた. CS 誘導肺気腫マウスにおいても AIM 欠損マウスにおいて肺気腫形成と細胞死が抑制された. またマウス肺胞マクロファージを CSE で刺激すると, AIM 欠損マウスから採取した肺胞マクロファージでは, MMP-12 発現が遺伝子・タンパクレベルの両方で抑制されていた. この抑制は, リコンビナント AIM の添加により改善した. 臨床研究検体の解析においては, COPD 患者では健康な喫煙者より血漿 AIM/IgM 値が高値であった. また COPD 患者においては, GOLD 分類で評価した重症度が高い患者ほど血清 AIM/IgM 値が高値となった. さらに血清 AIM/IgM 値が高値である程初回増悪までの期間が短く, 全死亡率と呼吸器疾患による死亡率も高かった.

【考察】　MMP-12 は以前より COPD の病態への促進的な関与が報告されているが, PPE により誘導された MMP-12 上昇が AIM 欠損マウスで野生型マウスより抑制されており, この結果は肺胞マクロファージを用いた細胞実験でも裏付けられた. よって, AIM は肺胞マクロファージの MMP-12 の発現亢進を介して COPD の病態を促進することが示唆された. また PPE 投与マウスにおいて BAL 液中の好酸球, 肺内 IL-33 遺伝子・タンパク発現上昇が AIM 欠損マウスで抑制され, 有意差に至らないものの IL-5 の遺伝子発現上昇も抑制される傾向にあった. 当教室の過去の研究では気管支喘息モデルマウスで 2 型炎症が AIM 欠損マウスで抑制されており, AIM が好酸球性炎症に促進的に関与する可能性が考えられる.

細胞死も COPD の病態を促進すると考えられている. 今回 PPE 及び CS 誘導マウスモデルの両者において, AIM 欠損マウスで肺内の細胞死が抑制された. AIM は COPD 患者において肺胞マクロファージのアポトーシスを抑制することが報告されている. 以上より, AIM は肺胞マクロファージのアポトーシス抑制を介して肺内の炎症を遷延させ, 肺胞壁を構成する細胞の細胞死を誘導し, それが肺気腫形成に繋がる可能性がある. また COPD 患者において, 非喫煙者ではなく健康な喫煙者と比較して血漿 AIM/IgM 値が高値であった. これは, 健康な喫煙者における血漿 AIM/IgM 値低値が COPD に対する防御的な素因を反映している可能性がある.

【結論】　COPD において, AIM が MMP-12 遺伝子発現亢進を介して病態に促進的に関与することが示唆された.