

(書式12)

氏名	さの ひろひと 佐野 寛仁
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	2020年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	慢性閉塞性肺疾患における cysteinyl-tRNA synthetase 2(CARS2)の役割に関する研究
論文審査委員	主査 教授 一ノ瀬 正和 教授 井上 彰 教授 香取 幸夫

論文内容要旨

慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) の発症・進展に関わる因子の一つとしてオキシダント・アンチオキシダント不均衡に伴う肺の酸化ストレスが報告されている。活性イオウ分子種 (reactive sulfur species: RSS) は高い求核性や抗酸化活性を有する新規の内因性抗酸化分子である。COPD 患者の肺内外では健常者と比較して RSS の含有量が減少していることから、COPD 肺の抗酸化能低下の新規要因と想定されている。しかしながら、肺における RSS の減少が個体レベルにおいて肺の炎症や気腫形成に及ぼす影響は不明である。近年 RSS の主たる産生酵素がシステイン tRNA 合成酵素 2(cysteinyl-tRNA synthetase 2: CARS2)であることが明らかにされ、Cars2 ヘテロ欠損 (Cars2^{+/−}) マウスが確立された。さらに、CARS2 由来の RSS はミトコンドリアにおいて膜電位の形成に重要な役割を果たしていることも明らかとなった。

本研究では以下の3点を明らかにすることを目的とした。1) COPD 患者の肺構築細胞における CARS2 の発現レベルを明らかにする。2) Cars2^{+/−}マウスに対して肺気腫モデルを作成し、RSS の含有量低下が肺の炎症や気腫形成に及ぼす影響を個体レベルで明らかにする。3) 活性イオウ供与体による肺の炎症および気腫化抑制効果についてマウスモデルを用いて明らかにする。COPD の病態における CARS2 の役割を明らかにするために、健常非喫煙者、健常既喫煙者、COPD 既喫煙者の手術肺検体から分離培養した初代継代肺構築細胞を用いて CARS2 の発現量、ミトコンドリアの膜電位を評価した。さらに、CARS2 の蛋白発現量と臨床パラメータの関与についても検討を行なった。Cars2^{+/−}マウスを用いてエラストラーゼ誘導肺気腫モデルを作成し形態学的評価、生理学的評価を行なった。またエラストラーゼ投与後急性期の活性酸素種、活性窒素種、炎症性メディエーターの産生、マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloproteinase: MMP) などの検討を行なった。ヒト手術肺における検討では、COPD 患者由来の肺構築細胞 (気道上皮細胞、肺線維芽細胞) では、健常非喫煙者や健常既喫煙者と比較して CARS2 の蛋白発現量が有意に低下していた。さらに CARS2 の蛋白量は気流閉塞や拡散能などの臨床パラメータと正の相関を認めた。さらに COPD 患者の肺構築細胞ではミトコンドリアの膜電位の低下が認められた。Cars2^{+/−}マウスでは、野生型 (Cars2^{+/+}) マウスと比較しエラストラーゼに誘導される肺気腫が形態学的、生理学的に増悪した。Cars2^{+/−}マウスではエラストラーゼ投与により、気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid: BALF) においてマクロファージを中心とする炎症細胞数の増加が見られた。また Cars2^{+/−}マウスでは BALF 中のサイトカインや MMP-9 の増加、活性酸素種の増加が認められた。またこれらの事象は活性イオウ供与体である dialkyl glutathione trisulfide の投与を行うことで抑制することができた。本研究では、COPD 患者では肺構築細胞の CARS2 の発現量が低下していることを明らかにした。さらに Cars2^{+/−}マウスでは RSS が低下しており、エラストラーゼに誘導される肺気腫形成が増悪することを明らかにした。CARS2 の低下は RSS の低下により肺における酸化ストレスの増加をもたらす肺の炎症を増強させて COPD の病態に関与している可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題目 慢性閉塞性肺疾患における cysteinyl-tRNA synthetase 2(CARS2)の役割に関する研究

所属専攻・分野名 医科学専攻・呼吸器内科学分野

学籍番号 B6MD5065 氏名 佐野 寛仁

慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) の発症・進展に関わる因子の一つとしてオキシダント・アンチオキシダント不均衡に伴う肺の酸化ストレスが報告されている。活性イオウ分子種 (reactive sulfur species : RSS) は高い求核性や抗酸化活性を有する新規の内因性抗酸化分子である。COPD 患者の肺内外では健常者と比較して RSS の含有量が減少していることから、COPD 肺の抗酸化能低下の新規要因と想定されている。しかしながら、肺における RSS の減少が個体レベルにおいて肺の炎症や気腫形成に及ぼす影響は不明である。近年 RSS の主たる産生酵素がシステイン tRNA 合成酵素 2(cysteinyl-tRNA synthetase 2 : CARS2)であることが明らかにされ、Cars2 ヘテロ欠損 (Cars2 +/-) マウスが確立された。さらに、CARS2 由来の RSS はミトコンドリアにおいて膜電位の形成に重要な役割を果たしていることも明らかとなった。

本研究では以下の3点を明らかにすることを目的とした。1) COPD 患者の肺構築細胞における CARS2 の発現レベルを明らかにする。2) Cars2 +/-マウスに対して肺気腫モデルを作成し、RSS の含有量低下が肺の炎症や気腫形成に及ぼす影響を個体レベルで明らかにする。3) 活性イオウ供与体による肺の炎症および気腫化抑制効果についてマウスモデルを用いて明らかにする。COPD の病態における CARS2 の役割を明らかにするために、健常非喫煙者、健常既喫煙者、COPD 既喫煙者の手術肺検体から分離培養した初代継代肺構築細胞を用いて CARS2 の発現量、ミトコンドリアの膜電位を評価した。さらに、CARS2 の蛋白発現量と臨床パラメータの関与についても検討を行なった。Cars2 +/-マウスを用いてエラストラーゼ誘導肺気腫モデルを作成し形態学的評価、生理学的評価を行なった。またエラストラーゼ投与後急性期の活性酸素種、活性窒素種、炎症性メディエーターの産生、マトリックスメタロプロテアーゼ (Matrix metalloproteinase : MMP) などの検討を行なった。ヒト手術肺における検討では、COPD 患者由来の肺構築細胞 (気道上皮細胞、肺線維芽細胞) では、健常非喫煙者や健常既喫煙者と比較して CARS2 の蛋白発現量が有意に低下していた。さらに CARS2 の蛋白量は気流閉塞や拡散能などの臨床パラメータと正の相関を認めた。さらに COPD 患者の肺構築細胞ではミトコンドリアの膜電位の低下が認められた。Cars2 +/-マウスでは、野生型 (Cars2 +/+) マウスと比較しエラストラーゼに誘導される肺気腫が形態学的、生理学的に増悪した。Cars2 +/-マウスではエラストラーゼ投与により、気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid : BALF) においてマクロファージを中心とする炎症細胞数の増加が見られた。また Cars2 +/-マウスでは BALF 中のサイトカインや MMP-9 の増加、活性酸素種の増加が認められた。またこれらの事象は活性イオウ供与体である dialkyl glutathione trisulfide の投与を行うことで抑制することができた。本研究では、COPD 患者では肺構築細胞の CARS2 の発現量が低下していることを明らかにした。Cars2 +/-マウスでは RSS が低下しており、エラストラーゼに誘導される肺気腫形成が増悪することを明らかにした。CARS2 の低下は RSS の低下により肺における酸化ストレスの増加をもたらす肺の炎症を増強させて COPD の病態に関与している可能性が示唆された。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。