

分担研究報告書

ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける 肺サーファクタント蛋白に関する検討

研究分担者 中西 洋一 九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授
研究協力者 鈴木 邦裕 九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 助教
柳原 豊史 九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 助教

研究要旨 C57BL/6 マウスに Benzo[a]pyrene(BaP)を経気道的に投与すると、細気管支領域で気道傷害が観察され、サーファクタント蛋白 A(SP-A)の発現低下を認めた。

A . 研究目的

油症の主な原因物質と考えられる PCDFs をげっ歯類に経気道的に投与すると、電子顕微鏡にて Club 細胞の壊死が認められると報告されている¹⁾。油症患者における肺病変の主座は Club 細胞を中心とした細気管支領域と考えられおり、Club 細胞は肺において Arylhydrocarbon receptor(AhR)を発現している数少ない細胞のひとつであるため、ダイオキシン類の AhR を介し CYP1A1 の経路を通じた細胞傷害作用から推測される病態生理とも合致する²⁾³⁾。これまで我々は、ダイオキシン類による肺傷害のメカニズムを解明するために AhR-CYP1A1 を介した油症動物実験モデルの作成を目指してきた。現在のところ、マウスの肺に経気管的に AhR 作動性物質である Benzo[a]pyren(BaP)を投与することにより⁴⁾、気道分泌物の増加を示すモデルを作成している。我々が着目している Club 細胞は、肺サーファクタント蛋白などの肺の恒常性を維持する因子を産生している。肺サーファクタント蛋白は肺胞構造の維持のみならず肺の初期免疫に関わっており、細菌感染防御や免疫細胞の調節など、肺疾患において重要な役割を担っている。今回、我々は、ダイオキシン類による気道上皮傷害(Club 細胞傷害)における

肺サーファクタント蛋白に役割に着目して研究を行った。

B . 研究方法

BaP をマウスに経気道的に投与し、7 日後に組織学的評価を行った。具体的には C57BL/6 マウス(雄)10 週齢に Tricaprylin(TR)で溶解した BaP を 1 匹あたり 500 μ g(50 μ l) を 気管切開の上、経気管的に投与した¹⁾²⁾。対照群には溶媒のみを 50 μ l 投与した。投与 7 日後に肺を取り、パラフィン固定を行った。その後、薄切スライドを作成し、HE 染および PAS 染色で病変の作成の確認を行い、次に、Surfactant Protein(SP)-A、CC10 による免疫染色を施行した。

C . 研究結果

BaP 経気管投与後、投与 7 日後に肺を取り出して HE 染色にて検討した結果、2 つの群の炎症所見などに差は認めなかった。細気管支領域を中心に観察すると、BaP の群で、細気管支上皮の肥厚と、配列の変化が観察された。(Figure 1)
PAS 染色では、BaP 群において比較的区域支に近い終末細気管支領域で、PAS 陽性細胞が認められた。(Figure 2)
Club 細胞特異的タンパク質 CC10 に対する

抗体で免疫染色を行うと、細気管支上皮の大部分が濃染され、ほとんどがClub細胞であると考えられた。HE染色同様、終末細気管支の肥厚と、配列の変化が確認された。(Figure 3)

SP-Aで免疫染色を行うと、終末細気管支付近、Club細胞主体の気管支上皮でのSP-Aの発現は、TR群と比してBap群で抑制されていた。(Figure 4)

D．考察

肺サーファクタントプロテインは界面活性剤として、肺の表面張力を低下させ、肺胞が構造を保持するのに役にたっている。肺サーファクタントプロテインにはSP-A、SP-B、SP-C、SP-Dの4種類があり、そのうち、SP-AとSP-Dは水溶性であり、SP-B、SP-Cは疎水性である。実臨床では、肺が傷害を受けた際のバイオマーカーとして活用されている⁵⁾。油症患者においては、平成25年に我々が報告した通り、SP-Aの血中濃度上昇と一部のダイオキシン類の濃度に有意な関連が認められている⁶⁾。肺が傷害を受けた際のSP-Aの体内動態は不明であるが、SP-Aに類似したSP-Dでは、びまん性肺疾患における血中SP-D上昇時に、気管支肺胞洗浄液中のSP-D濃度が低下することが報告されており⁵⁾、肺実質から血中へのサーファクタントの漏出が考察される。今回、我々の実験では、SP-A染色では、BaPを投与された群で、比較的末梢の終末細気管支領域での気道上皮のSP-Aの発現の抑制を認めた。これはClub細胞傷害による結果と血液中への漏出が推測されるが、今後、血中や気管支肺胞洗浄液中のSP-A濃度を測定することで、病態生理の解明を進めて行く予定である。また、他のサーファクタント蛋白に関して、SP-Cの免疫染色も行ったが、主にII型肺胞上皮が染色されたが、大きな変化を認めなかった(図表なし)。SP-Dに関しては、平成25年に報告した通り、血中濃度上昇

と咳嗽、喀痰といった呼吸器症状に相関を認めおり⁶⁾、SP-D対しても油症気道傷害に關与する因子として、今後、研究予定である。

E．結論

マウスにBaPを経気道的に投与することによって気道上皮でのSP-Aの発現の低下を認めた。

F．研究発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況

なし

H．参考文献

- 1) 中西洋一、他、(1985). 油症における呼吸器系ならびに免疫系の障害—経過ならびに発症機序について. 福岡医誌. 1985; 76:196-203
- 2) Podeschard N, et al. Interleukin-8 Induction by the environmental Contaminant benzo(a)pyrene is aryl hydrocarbon receptor-dependent and leads to lung inflammation. Toxicol Lett. 2008;177(2):130-7
- 3) Wong PS, et al. Aryl hydrocarbon receptor activation in NCI-H441 cells and C57BL/6 mice: possible mechanisms for lung dysfunction. Am J Respir Cell Mol Biol. 2010;42(2):210-7.
- 4) N'Diaye M, et al. Aryl hydrocarbon receptor-and calcium-dependent induction of the chemokine CCL1 by the environmental contaminant benzo(a)pyrene. J Biol Chem. 2006;281(29): 19906-15.
- 5) Nishikiori et al. Distinct compartmentalization of SP-A and SP-D in the vasculature and lungs of patients wi

th idiopathic pulmonary fibrosis. BMC
Pulmonary Medicine 2014, 14:196

6) 中西洋一、他、(2014). 食品を介した
ダイオキシン類等の人体への影響の把握
とその治療法の開発等に関する研究「油症
患者における血中 Surfactant protein に
関する検討」,平成 25 年度 分担者報告書