

Probucol attenuates hyperoxia-induced lung injury in mice

河口, 知允

<https://doi.org/10.15017/1931998>

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (医学), 論文博士
バージョン :
権利関係 : CC BY 4.0

氏 名：河口 知允

論 文 名：Probucol attenuates hyperoxia-induced lung injury in mice
(probucol はマウスにおいて高濃度酸素肺傷害を減弱させる)

区 分：乙

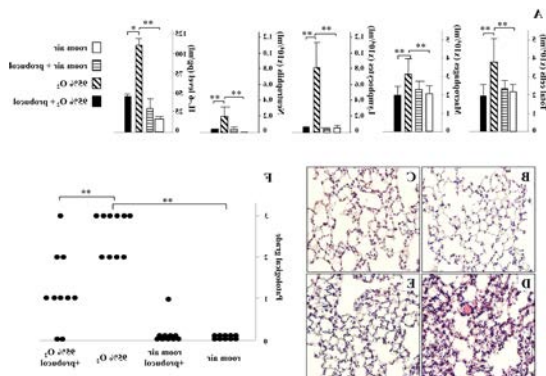
論 文 内 容 の 要 旨

背景：酸素療法は低酸素血症の患者への治療に用いられるが高濃度酸素への長期間曝露は acute respiratory distress syndrome (ARDS) の誘因となり得る。高濃度酸素肺傷害動物モデルにおいて肺胞や間質の肥厚、硝子膜形成、炎症細胞浸潤、肺胞出血と言った病理学的特徴が認められ、その機序として活性酸素 (reactive oxygen species: ROS) や炎症性サイトカイン、アポトーシスが関与しているとこれまでの研究から考えられている。Probucol は抗アテローム硬化作用を有するジフェノール化合物で、LDL-コレステロールを低下させ、抗酸化作用、抗炎症作用を有していると報告されている。今回我々は抗酸化作用、抗アポトーシス作用を有する probucol がマウスにおける高濃度酸素肺傷害を保護するか実験した。

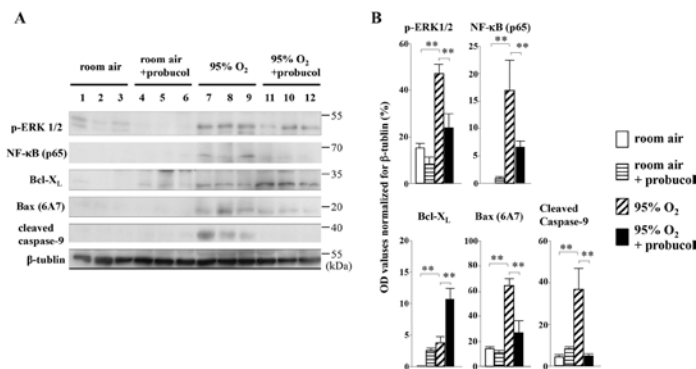
方法：7週齢雌の C57BL/6 マウスを用い95%濃度酸素、室内気的环境下に72時間留置しそれぞれ曝露前に probucol 130 μ g/kg を気管内投与した群としなかった群に分けた。72時間後マウスの肺より気管支肺胞洗浄液 (BALF) を回収し、BALF 中の総細胞数、炎症細胞数、IL-6 濃度を測定した。また摘出した肺組織を用いて HE 染色、TUNEL 染色を行い肺傷害の評価し、Western blot analysis でアポトーシスに関わる蛋白の発現を評価した。

結果：BALF 中総細胞数、好中球数、リンパ球数、IL-6 濃度は高濃度酸素曝露マウスにおいて室内気群のマウスと比較して有意な上昇を認めたが probucol 投与により有意に抑制した。高濃度酸素曝露マウスの肺組織は好中球、リンパ球浸潤を伴う肺胞壁の肥厚や肺胞出血、間質の浮腫を認めたが、probucol により軽減された。アポトーシスを評価するために行った TUNEL 染色や酸化ストレスの程度を評価するために行った 8-OHdG の免疫染色でも同様に probucol 投与は TUNEL 陽性細胞数、8-OHdG の発現を有意に抑制した。また NADPH の構成要素の一つである p47^{phox} のウェスタンブロットにおける発現も probucol 投与により有意に減弱していた。

Western blot を用いてアポトーシスに関連した蛋白の発現を解析したところ高濃度酸素により引き起こされた NF- κ B 活性化、Bax 発現、caspase-9 活性化を probucol は抑制させた。一方、アポトーシス抑制因子の一つである Bcl-X_L は probucol 投与により増強されていた。Bcl-X_L の発現は室内気曝露群においても probucol 投与により増強していた。



図：BALF および組織学的所見に対する probucol の効果



図：Western blot による解析

考察：高濃度酸素により引き起こされる細胞死はその表現型に関わらずアポトーシスシグナル経路が重要な役割を担っていると考えられる。本研究では Bax、cleaved caspase-9 の発現が高濃度酸素曝露マウスの肺組織において増加しており、このことはミトコンドリアを介したアポトーシスの経路が活性化していることを示した。我々は probucol 投与が高濃度酸素曝露マウスの肺組織において cleaved caspase-9 とともに Bax の発現を減少させ、Bcl-X_L の発現を有意に増強させることを示した。Bcl-X_L は bcl-2 ファミリーのアポトーシス抑制因子であり、Bax のミトコンドリアへの移行を抑え cytochrome c の放出を抑制する。我々の結果は高濃度酸素曝露マウスにおいて肺胞上皮細胞に Bcl-X_L 発現を増強させることが、probucol の抗アポトーシス作用機序の一つである可能性を示唆している。さらに興味深いことに室内気下のマウス肺組織でも probucol 投与により Bcl-X_L の発現が増強している傾向にあり probucol が直接的に Bcl-X_L の発現を増加させている可能性が示唆された。

高濃度酸素は ROS の産生を引き起こし、ROS は Bax 活性化を誘導する。NADPH の構成要素の一つである p47^{phox} は高濃度酸素により活性化され ROS の産生を引き起こすと考えられている。本研究で probucol は高濃度酸素曝露マウスの肺組織において p47^{phox} の発現を低下させる傾向にあり probucol が酸化ストレスによる障害を抑制する機序の一つとして NADPH オキシダーゼの活性化の抑制を介している可能性が考えられた。

IL-6 は炎症組織において NF-κB により誘導される多機能的なサイトカインであり、IL-6 はマウスの高濃度酸素肺傷害における炎症を評価するマーカーとされている。本研究においても BALF における炎症細胞数、IL-6 と肺組織における NF-κB の発現はいずれも高濃度酸素曝露マウスにおいて有意に上昇し、probucol 投与により BALF 中の炎症細胞数、IL-6、肺組織における NF-κB と有意に低下させた。我々の結果は probucol が NF-κB の活性化を阻害することで IL-6 の放出を抑制させ炎症反応をある程度減少させたことを示唆している。

しかし本研究には2つの限定事項があり一つは BALF 中の他のサイトカイン/ケモカインを測定しなかったことであり、もう一つは肺を構成する各々の細胞に対する probucol の効果を特定できなかったことである。そのため今後さらなる研究が必要であると考えられる。

本研究では抗酸化作用、抗アポトーシス作用、抗炎症作用を介して probucol が高濃度酸素肺傷害の進展を抑制したことを示した。気管内投与も含めた probucol 投与は ARDS や高濃度酸素肺傷害の新たな治療法となり得るかもしれない。