

平成24年2月

高田美樹 学位論文審査要旨

主 査 清 水 英 治
副主査 稲 垣 喜 三
同 松 浦 達 也

主論文

難治性肺線維性疾患におけるPeroxioredoxin-6 (PRDX-6) の発現に関する検討

(著者：高田美樹、橋本潔)

平成24年 米子医学雑誌 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

難治性肺線維性疾患におけるPeroxioredoxin-6 (PRDX-6)の発現に関する検討

難治性肺線維性疾患は、慢性かつ進行性に肺の線維化が進行する予後不良の疾患である。この病態に関しては慢性の肺胞上皮障害とそれに引き続いて起こる異常修復であるとする説が提唱されており、増殖因子やサイトカイン、レドックスインバランスなどの関与を示唆する報告がみられるが、線維化の進展、増悪の鍵を握る分子は未だ不明である。また近年のタンパク質解析技術の進歩により、種々の疾患の病態究明においてプロテオーム解析が頻繁に行われるようになった。本研究では難治性肺線維性疾患の病態解析としてはじめて、液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC/MS/MS) を用いたショットガンプロテオーム解析を行い、線維化の鍵を握る分子について探索を行った。この結果からPeroxioredoxin-6 (PRDX-6)に注目し、難治性肺線維性疾患患者の肺組織を用いた免疫組織化学的検討を行った。

方 法

C57BL/6Nマウスに、ブレオマイシン (bleomycin: BLM) を投与しBLM誘発肺線維症モデルマウス (BLMモデル) を作製した。ネガティブコントロール (negative control: NC) には生理食塩水を投与した。ポンプ挿入後経時的にマウスを屠殺し、全肺に対し気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage: BAL) を行った。回収したBAL液 (BAL fluid: BALF) を遠沈し、上清を精製後LC/MS/MSを用いて解析した。BAL後右肺組織をH-E標本とし、線維化病変の重症度をスコアリングした (fibrotic score: FS)。

また難治性肺線維性疾患13症例の外科的肺生検組織を用いたPRDX-6の免疫組織化学を行い、PRDX-6発現状況別の生存分析と各種臨床因子との相関について検討を行った。

結 果

BLMモデルの肺組織標本では、胸膜直下および小葉中心部優位の線維性病変、肺胞隔壁の線維性肥厚、炎症細胞浸潤を認めた。作製したBLMモデルの中からFSが偏らないように雄、雌4匹ずつ選択した。NCは性別、週齢、ポンプ挿入時体重が各BLMモデルと同等になるよう選択した。

BLMモデルとNCにおけるBALFプロテオーム解析では、BLMモデルのPRDX-6発現量は各NCと

比較し有意に低値を示した ($p = 0.000-0.005$)。また、FSが異なるBLMモデル同士の比較では、PRDX-6発現量は性別を問わず線維化が比較的軽度な段階で有意に低下し ($p = 0.002-0.042$)、比較的高度になると再び上昇するパターンを示した。一方、NCにおけるPRDX-6発現量は性別を問わず、BLMモデルとは全く異なるパターンを示した。

難治性肺線維性疾患と診断された13症例の肺組織を用いたPRDX-6の免疫組織化学では、8例がPRDX-6陽性、5例が陰性であった。この13症例に対して生存分析を行ったところ、PRDX-6陰性例は陽性例と比較し有意に予後不良であった ($p = 0.039$)。またPRDX-6の発現状況と各種臨床因子との相関に関して統計学的解析を行ったが、いずれも相関を認めなかった。

考 察

PRDX-6は強い抗酸化作用を持つペルオキシダーゼの一つで、細胞のレドックス制御に関与するタンパク質である。近年動物モデルを用いた実験より、PRDX-6は肺の線維化抑制に一定の役割を果たしている可能性が指摘されている。今回行ったBALFプロテオーム解析でも、PRDX-6の発現はNCと比較しBLMモデルで有意に低値であり、PRDX-6の抑制が肺の線維化進展に関与している可能性が示唆された。また、線維化の程度が異なるBLMモデル同士の比較において、PRDX-6の発現量が線維化の比較的軽度な段階で有意に低下しており、PRDX-6の抑制は線維化の初期段階に関与している可能性が考えられた。

難治性肺線維性疾患患者の肺生検組織を用いたPRDX-6の免疫組織化学的検討では、PRDX-6陰性例は陽性例と比較し有意に予後不良であった。またPRDX-6の発現と各種臨床因子は相関を示さず、PRDX-6陰性は独立した予後不良因子である可能性が考えられた。難治性肺線維性疾患患者の肺組織において、PRDX-6陽性例と陰性例の生命予後に有意差がみられたという結果からは、PRDX-6の活性化を介したレドックスインバランスの改善は今後の治療戦略の一つになり得るものと考えられる。

結 論

本研究では、肺の線維化進行にPRDX-6の抑制状態が密接に関与している可能性を示した。また難治性肺線維性疾患患者の生検肺組織においては、PRDX-6陰性は予後不良を示唆した。難治性肺線維性疾患の病態解明と治療戦略においてPRDX-6は非常に重要な分子であると考えられた。