

伊藤博之 論文内容の要旨

主 論 文

Cigarette smoke induces endoplasmic reticulum stress and suppresses efferocytosis through the activation of RhoA

喫煙は小胞体ストレスを惹起し、RhoA の活性化を介して efferocytosis を抑制する

伊藤博之、山下嘉郎、田中健之、高木理博、Minh Nhat Le、Lay-Myint Yoshida、森本浩之輔

Scientific Reports 10(1)12620 2020年7月28日掲載
11 ページ

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：森本浩之輔 教授)

【背景】マクロファージはアポトーシス細胞を効率的に貪食除する (Efferocytosis) ことで、炎症を制御するだけではなく、同時に肝細胞増殖因子 (HGF) を産生するなどして組織修復にも大きな役割を担っている。Efferocytosis の障害は慢性閉塞性肺疾患 (COPD) や嚢胞性線維症などの炎症性肺疾患のキーマカニズムの一つであることが示されている。喫煙により、低分子量 G 蛋白質の一つである RhoA が活性化されることにより efferocytosis が抑制されることが証明されているが、そのメカニズムは十分に解明されていない。

【仮説】喫煙により小胞体ストレスが惹起されることにより efferocytosis が抑制される。

【方法】J774.1 細胞および RAW264.7 細胞を、小胞体ストレスを惹起する Tunicamycin (TM)、Thapsigargin (TG) で刺激し、アポトーシス Jurkat 細胞を用いて efferocytosis を評価した。小胞体ストレス下での RhoA 活性を ROCK 活性化キットを用いて測定し、Y27632 (ROCK 阻害剤) によって efferocytosis が回復するかを検討した。たばこ煙抽出液 (CSE) によっても小胞体ストレスが生じることを確認し、分子シャペロンであるタウロウルソデオキシコール酸 (TUDCA) の存在下での Rho 活性を確認した。また TM の efferocytosis への影響に対する PERK 阻害剤 (GSK2606414) および eIF2 α 脱リン酸化阻害剤 (salubrinal) の効果を確認した。最後に、マウスの肺胞マクロファージを用い、小胞体ストレス下における efferocytosis と PERK 阻害剤および eIF2 α 脱リン酸化阻害剤の効果について確認した。

【結果】異なる機序で小胞体ストレスを誘導する TM、TG は、ともに容量依存性に efferocytosis を有意に抑制した。この効果は、J774.1 細胞と RAW264.7 細胞の二つの培養細胞で確認し、また carboxylated beads の貪食の評価でも再現された。J774.1 細胞と Y27632 を用いた実験で、この作用は RhoA の活性化に依存したものであることがわかった。また PERK 阻害剤は容量依存性に TM による efferocytosis 抑制を回復させ、小胞体ストレスによる efferocytosis の抑制は PERK-eIF2- α 経路に依存していることが推測された。salubrinal によって efferocytosis が低下したこともこれを裏付けた。また、CSE による J774.1 細胞の RhoA の活性化は、TUDCA と PERK 阻害剤により抑制された。マウスの肺胞マクロファージにおいても、小胞体ストレスにより efferocytosis の抑制と PERK 阻害剤によりこれを回復させることを確認した。

【考察】喫煙はマクロファージにおいて小胞体ストレス惹起し、PERK-eIF2 α 系を介して RhoA を活性化していると考えられた。これまで、喫煙による efferocytosis の抑制は、RhoA を介するものであることは証明されていたが、RhoA をターゲットとした治療は難しい。しかし、哺乳類で安全に使用されている TUDCA の実験で示したように、小胞体ストレスは治療ターゲットとなりうる。