

塚本（黒木）美鈴 論文内容の要旨

主 論 文

Repression of Bleomycin Induced Pneumopathy by TNF

TNFによるブレオマイシン誘発肺障害の抑制

塚本（黒木）美鈴、野口雄二、下野玄英、朝野和典、田代隆良

小幡裕一、中山睿一、河野 茂

The Journal of Immunology, 2003, 170:567-574.

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻

(指導教授：河野 茂 教授)

緒言

特発性間質性肺炎は間質の線維化を伴った慢性炎症性肺疾患である。腫瘍壊死因子（TNF）は、ブレオマイシン誘発性の人の肺疾患、またその動物モデルにおいて、炎症性サイトカインとして重要な役割が示唆されている。しかし、TNF欠損マウスを用いた数々の研究ではTNFは抗炎症の役割をも示すことが示唆されている。我々はこのブレオマイシン誘発性肺障害におけるTNFの役割を明らかにする為に、ブレオマイシンを経気管的にTNF欠損マウスに注入したモデルを使用した。

これまでのTNFは肺の炎症において炎症性サイトカインの役割を果たしているとの報告に対し、本実験ではブレオマイシンに誘発された肺の炎症における抗炎症性サイトカインとしての役割をしめした。

方法

動物：8週齢以上の雄C57BL/6マウスおよびC57BL/6系TNF α 欠損マウスを使用した。

モデル作成：マウスを十分に麻酔した後、経気管支的に塩酸ブレオマイシン（日本化薬）0.1mg/miceを注入

TNF α の濃度：ブレオマイシン注入後、day 7、14のマウスを密閉した吸入容器にいれ、0.25 μ g/mlのマウスリコンビナントTNF α 溶液を噴霧し吸入させ、2日後に気管支洗浄（BAL）を行い、気管支肺胞洗浄（BALF）中の細胞をカウントした。

細胞解析：ブレオマイシン注入後、経時的にBALFを採取し、総細胞数をカウントした後、FACSにて、浸潤細胞の表面マーカー、TNF receptor の発現を解析した。

サイトカイン測定：マウス肺のホモジネートを行い、その上清を用いてTNF α をELISAにて測定した。

結果

1.BALF中への炎症細胞の浸潤はTNF α 欠損マウスでは遷延化した。

2.組織学的にはTNF α 欠損マウスでは早期より炎症細胞の浸潤が認められた。

3. BALF中細胞表面のTNF α receptor および の発現はブレオマイシンの気管内注入直後に認められた。さらに7日目以降に再度その発現が認められた。
4. Wild typeマウスにおける肺内TNF α は、急性期に上昇した後一旦低下し、7日目以降に再度上昇が認められた。
5. Wild typeマウスにおけるBALF中の炎症細胞はアポトーシスを起こしていた。一方、TNF α 欠損マウスでのアポトーシス細胞の割合は極めて少なかった。
6. ブレオマイシン注入後、14日目にリコンビナントマウスTNF α を吸入させたTNF欠損マウス群ではBALF中の細胞が優位に減少していた。しかし7日目に吸入させた群ではまったくBALF中の細胞は減少しなかった。
7. ブレオマイシン注入後14日目よりリコンビナントマウスTNF α を週2回4週間続けて吸入させたTNF欠損マウス群では吸入させなかった群に比べ優位に生存率が高く、組織学的にも炎症の修復が見られた。

考察

これまでブレオマイシン誘発性肺障害において、TNFが肺障害を惹起するという炎症性サイトカインとしての報告は種々あるが、本研究では急性期を過ぎた後の抗炎症性サイトカインとしてのTNFの役割を示した。ブレオマイシン誘発性肺障害の後期に産生されるTNFは、BALF細胞中が発現するTNF α -Receptorを介してアポトーシスを誘発することにより、肺障害の修復に重要な役割を担っていると考えられた。とりわけ、TNF α -Receptorがこのアポトーシスによる修復に関与していることが示唆された。今後、臨床において間質性肺炎、肺線維症など、慢性炎症性肺疾患において、このような機序を利用した治療法の開発につながるかもしれない。