

氏 名 かんばら けんた
神原 健太

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 富医薬博甲第 135 号

学位授与年月日 平成 26 年 3 月 21 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教育部名 富山大学大学院医学薬学教育部 医学領域 博士課程
生命・臨床医学専攻

学位論文題目 **In vivo depletion of CD206+M2 macrophages exaggerates lung injury in endotoxemic mice via increased AP-1 activation**
(CD206 陽性マクロファージの欠損は AP-1 活性化を介してマウス敗血症性肺傷害モデルにおける肺傷害を増悪する)

論文審査委員

(主査)	教授	芳村 直樹
(副査)	教授	井村 穰二
(副査)	教授	白木 公康
(副査)	教授	杉山 敏郎
(指導教員)	教授	戸邊 一之

論文内容の要旨

【目的】

【はじめに】

マクロファージは、さまざまな臓器において、重要な役割を担っており、周辺環境に応じて役割を演じ分けている。従来報告されてきた炎症を誘導する働きをもつM1マクロファージに加えて、抗炎症的に働くM2マクロファージの働きが注目されるようになった。しかしながら、M2マクロファージの肺における役割はまだ十分には分かっていない。

M2マクロファージの肺における役割を検討するため、M2マクロファージを代表する表面マーカーであるCD206にジフテリアトキシン受容体（以下DTR）を共に発現させた遺伝子改変マウス（以下CD206iDTR-TG）を作製した。CD206iDTR-TGマウスにジフテリアトキシンを投与することで、CD206陽性M2マクロファージをアポトーシスに陥らせる事（アブレーション）ができる。

【目的】

今回我々は、CD206iDTR-TGマウスを用いて、急性肺傷害におけるM2マクロファージの働きを検討した。

【方法並びに成績】

【方法】

野生型c57BL6マウスの各臓器におけるCD206mRNAの発現を比較した。同時に、CD206免疫染色によって、肺組織と肺胞洗浄液でのCD206陽性細胞の局在を検討し

た.

CD206iDTR-TGマウスに、ジフテリアトキシンを3日間連日投与し、CD206陽性マクロファージのアブレーションを確認した.

LPS経尾静脈投与による敗血症性急性肺傷害モデルをCD206DTRマウスで作成し、M2マクロファージのアブレーションによる肺傷害への影響を検討した。

[結果]

野生型c57BL6マウスにおいては、CD206mRNAの発現が最も高い臓器は肺であった。さらに、CD206免疫染色によって、肺組織と肺胞洗浄液において、CD206が陽性となる細胞は肺胞マクロファージであることを確認した。

CD206iDTR-TGマウスは、ジフテリアトキシン投与後、肺においてCD206mRNAの発現が優位に抑制された。免疫染色でも、肺胞洗浄液においてCD206陽性マクロファージの減少を認めた。さらに、急性肺傷害モデルでは、M2マクロファージのアブレーションにより、血清でTNF α , MCP1, IL6の産生が亢進し、肺においてTNF α , MCP-1, IL6などの炎症性サイトカイン、ケモカインのmRNAの発現が亢進し、HE染色では、肺胞出血を伴う肺傷害を認めた。さらに、傷害肺では、AP-1/ c Jun, c Fosの活性化を認めた。

[総括]

CD206iDTR-TGマウスではジフテリアトキシン投与によるCD206陽性M2マクロファージのアブレーションにより、肺傷害が増悪した。このことから、CD206陽性M2マクロファージが急性肺傷害において有意な抗炎症的役割を有する事が示唆された。

学位論文審査の要旨

〔目的〕

近年、従来より報告されてきた炎症を誘導する働きをもつ M1 マクロファージに加えて、抗炎症的に働く M2 マクロファージの働きが注目されるようになってきた。しかしながら、M2 マクロファージの肺における役割はまだ十分には分かっていない。そこで神原健太君は、M2 マクロファージの肺における役割を検討するため、M2 マクロファージを代表する表面マーカーである CD206 にジフテリアトキシン受容体（以下 DTR）を共に発現させた遺伝子改変マウス（以下 CD206iDTR-TG マウス）を用いて、急性肺傷害における M2 マクロファージの働きを検討した。

〔方法〕

（実験 1） 野生型 c57BL6 マウスの各臓器における CD206 mRNA の発現を比較した。同時に、CD206 免疫染色によって、肺組織と肺胞洗浄液での CD206 陽性細胞の局在を検討した。

（実験 2） CD206iDTR-TG マウスに、ジフテリアトキシンを 3 日間連日投与し、CD206 陽性マクロファージのアポトーシス誘導（アブレーション）を確認した。

（実験 3） LPS 経尾静脈投与による敗血症性急性肺傷害モデルを CD206DTR マウスで作成し、M2 マクロファージのアブレーションによる肺傷害への影響を検討した。

〔結果〕

（実験 1） 野生型 c57BL6 マウスにおいては、CD206 mRNA の発現が最も高い臓器は肺であった。さらに CD206 免疫染色によって、肺組織と肺胞洗浄液において CD206 が陽性

となる細胞は肺胞マクロファージであることが確認された。

(実験 2) CD206iDTR-TG マウスでは、ジフテリアトキシン投与後、肺において CD206 mRNA の発現が有意に抑制された。免疫染色においても、肺胞洗浄液中の CD206 陽性マクロファージの減少が確認された。

(実験 3) LPS による急性肺傷害モデルでは、M2 マクロファージのアブレーションにより、血清で TNF- α 、MCP-1、IL-6 の産生が亢進し、肺において TNF- α 、MCP-1、IL-6 などの炎症性サイトカインやケモカインの mRNA の発現が亢進していた。HE 染色では肺胞出血を伴う肺傷害が認められた。さらに、傷害された肺組織においては、AP-1/cJun、cFos の活性化が認められた。

[総括]

今回、神原健太君は、野生型 c57BL6 マウスと CD206DTR マウスに作成した急性肺傷害モデルを比較検討し、M2 マクロファージのアブレーションにより、血清で TNF- α 、MCP-1、IL-6 の産生が亢進し、肺において TNF- α 、MCP-1、IL-6 などの炎症性サイトカインやケモカインの mRNA の発現が亢進していることと、傷害された肺組織においては、AP-1/cJun、cFos の活性化が認められ、肺傷害が増悪している、という 2 つの新知見を見出した。今回得られたこれらの検討結果より、CD206 陽性 M2 マクロファージが急性肺傷害において有意な抗炎症的役割を有する事が示唆された。

本研究では、抗炎症作用を有する M2 マクロファージが肺組織に多く存在し、急性肺傷害という状況下において抗炎症的役割をはたすという事実が明らかになった。本研究成果は、現在でも致死率の高い急性肺傷害の病態解明に寄与する重要な知見を得た点から高く評価できる。よって本審査委員会は本研究を博士（医学）の学位に十分値するものと結論した。