

論文の内容の要旨

氏名：新 谷 栄 崇

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：気道上皮バリア形成における Nrf2 の役割

研究の背景と目的

気管支喘息は、気道過敏性亢進、アレルギー性気道炎症や粘液産生細胞の過形成などを起こし、可逆性の気道狭窄をきたす疾患である。

アレルギー性気道炎症に対する治療として吸入ステロイド療法が普及したことにより喘息症状の軽減や Quality of Life の向上、呼吸機能の改善が飛躍的になされた。しかし未だにステロイド抵抗性の重症気管支喘息も少なくはなく、その治療に難渋することが多い。

気管支喘息患者の気道上皮バリア機能は、健常者と比べると脆弱であると報告されている。気管支喘息患者の気道上皮バリアの脆弱性のメカニズムを解明することで気管支喘息の新たな治療につながる可能性がある。ステロイドは気道上皮バリア機能を増強する作用を有するが、そのメカニズムを解明するために網羅的遺伝子解析を行い、治療標的となりうるバリア機能増強に関わるステロイド誘導性遺伝子の同定を試みた。

実験方法

ヒト気道上皮細胞(16HBE 細胞)を用いて、ステロイドが上皮バリア機能を増強することを Transepithelial electrical resistance (TER)及び、イソチオシアン酸フルオレセインで標識されたデキストラン(FITC-デキストラン)の上皮細胞間の透過率で評価した。デキサメサゾン(DEX)添加、無添加群の細胞からそれぞれ total RNA を抽出し、DNA マイクロアレイを用いて網羅的遺伝子解析を行った。遺伝子発現はリアルタイム PCR を用いて評価し、また特定した遺伝子の siRNA を用いて気道上皮バリア機能への影響を検討した。

結果と考察

ヒト気道上皮細胞(16HBE 細胞)を通常培養群と DEX 添加群に分けて培養を行い、TER、傍細胞間透過率を測定し、ステロイドによる気道上皮バリア機能増強効果を確認した。

次に DEX による気道上皮バリア機能増強のメカニズムを同定するために網羅的遺伝子解析を行った。同条件で培養を行い、通常培養群と DEX 添加群それぞれの細胞から total RNA を抽出し、DNA マイクロアレイを用いて網羅的遺伝子解析を行い、ステロイド誘導性に気道上皮バリア形成過程で発現が亢進する遺伝子を同定した。同定した遺伝子群の上流または下流に存在するシグナル経路を同定するために、Ingenuity Pathways Analysis (IPA)ソフトウェアを用いてパスウェイ解析を行った結果、気道上皮バリア機能増強に Nrf2 経路が関与している可能性を見いだした。

次に Nrf2 がバリア機能増強に実際に関与しているのか検討した。特異的 siRNA を用いて Nrf2 遺伝子のノックダウンを行い、DEX 添加、非添加群に分けて培養を行い、TER、傍細胞透過率を測定した。その結果 Nrf2 が気道上皮バリア機能増強に関与している可能性が示唆された。

結語

本研究により、Nrf2 がステロイドによる気道上皮バリア機能形成および増強に関与していることが明らかになった。同定した Nrf2 が気道上皮バリア機能形成および増強に関わる新たな標的分子として気管支喘息の治療につながる可能性が示唆された。