

## 学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 6 号	氏 名	坪内 拡張
[論文題名]			
Rikkunshito ameliorates bleomycin-induced acute lung injury in a ghrelin-independent manner. 六君子湯投与はブレオマイシン誘導性急性肺傷害をグレリン非依存性に改善する American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, accepted			
[要 旨]			
<p>【目的】急性肺損傷/急性呼吸窮迫症候群（以下 ALI/ARDS）は重症肺炎、敗血症、多発外傷などの種々の病態を誘因として発症し、急速に呼吸不全に陥る予後不良の疾患である。肺胞上皮損傷に伴う非心原性肺水腫を特徴とし、死亡率は 40%以上にも達するが、有効な治療法がなく、新たな観点からの治療法の開発が求められている。</p> <p>以前、我々は ALI/ARDS の疾患モデルであるブレオマイシン（BLM）急性肺傷害モデルにおいて、食欲増進作用と抗炎症作用を有するグレリン投与が、致死率、食欲低下、体重減少、肺上皮のアポトーシス、肺線維化を改善することを明らかにした (Imazu Y, Nakazato M, et al. Eur J Pharmacol 672: 153-158, 2011)。今回、我々はグレリン分泌を誘導することが知られている六君子湯（RKT）を投与することで、ブレオマイシン急性肺傷害を改善することができるかどうか検討した。</p> <p>【方法】10 週齢の C57BL/6 雄マウス（WT マウス）に BLM（6 U/kg）を気管内投与し、気管内投与 12 時間後から 14 日間 RKT（1 mg/kg）または蒸留水（DW）を連日経口投与した。本モデルにおいて、RKT 群と DW 群の生存率、摂餌量、体重変化量、血中グレリン濃度、胃や肺組織中のグレリン mRNA 発現量、気管支肺胞洗浄液中の細胞数や炎症性サイトカイン濃度、肺組織中の nuclear factor-kappa B (NF-<math>\kappa</math>B) タンパクと Inhibitor <math>\kappa</math>B<math>\alpha</math> (IkB<math>\alpha</math>) タンパクの発現、肺上皮アポトーシス数、肺コラーゲン含有量を評価した。また、これらの実験で得られた結果が、グレリン分泌依存性かどうか評価するため、10 週齢のグレリン欠損マウス (<i>ghrl</i><sup>-/-</sup> マウス) と、グレリン受容体である growth hormone secretagogue receptor 欠損マウス (<i>ghsr</i><sup>-/-</sup> マウス) を用いて、BLM 急性肺傷害モデルを作成し、RKT 群と DW 群の生存率、摂餌量、体重変化量、気管支肺胞洗浄液中の細胞数、肺コラーゲン含有量を測定した。</p> <p>【結果】WT マウスの BLM 急性肺傷害モデルにおいて、RKT 投与により生存率の改善、摂餌量や体重の減少抑制、気管支肺胞洗浄液中の炎症性サイトカイン濃度上昇抑制、肺上皮アポトーシスの抑制、肺コラーゲン含有量の増加抑制効果が認められた。血中グレリン濃度や胃組織中のグレリン mRNA 発現量は RKT 群で有意に高値だった。肺組織において、RKT 群では DW 群に比べ核内、細胞質内の NF-<math>\kappa</math>B タンパク量の増加が抑制さ</p>			

れ、細胞質内 I $\kappa$ B $\alpha$  タンパク量の減少が抑制されていた。一方、*ghrl*<sup>-/-</sup> マウスと *ghsr*<sup>-/-</sup> マウスの BLM 急性肺傷害モデルでは、RKT 投与により生存率の改善、気管支肺胞洗浄液中の好中球増加抑制、肺コラーゲン含有量の増加抑制効果が認められたが、摂餌量低下や体重減少の改善効果は認められなかった。

【考察】上記の結果から、RKT 投与は体重減少や摂餌量低下の抑制効果、抗炎症作用、肺上皮保護作用、抗線維化作用を有する事が示唆された。RKT 投与により、炎症シグナル活性化において重要な転写因子である NF- $\kappa$ B の核内移行が抑制されたことから、炎症とそれに引き続く肺線維化の抑制効果は NF- $\kappa$ B 経路を介する可能性が示唆された。*ghrl*<sup>-/-</sup> マウスと *ghsr*<sup>-/-</sup> マウスにおいても、RKT 群で生存率の改善、気管支肺胞洗浄液中の好中球増加抑制、肺コラーゲン含有量の増加抑制効果が認められたことから、上記の抗炎症、抗線維化効果はグレリン経路非依存性であることが示唆された。一方、*ghrl*<sup>-/-</sup> マウスと *ghsr*<sup>-/-</sup> マウスでは、RKT 群と DW 群間で摂餌量と体重変化量の有意差が認められなかったことから、RKT 投与における食欲改善効果はグレリン依存性である可能性が示唆された。WT マウスの BLM 急性肺傷害モデルにおいて、RKT の構成成分である Hesperidin (250 mg/kg)、glycyrrhizin (100 mg/kg) の投与は DW 群に比べて有意に気管支肺胞洗浄液中のタンパク含有量が低下していたことから、RKT 投与により得られる抗炎症作用の一部はこれらの物質が関与している可能性が示唆された。

【結論】RKT 投与は NF- $\kappa$ B の核内移行を抑制することで、肺の炎症とそれに惹起される肺線維化を抑制することが示唆された。また、これらの効果はグレリン経路に依存しない可能性がある。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度とする。