

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 石井 健男

本研究は、肺胞、肺胞マクロファージや呼吸細気管支において強い発現を認める xenobiotic enzyme である Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) の喫煙障害に対する防御における役割を調べることを鑑み、研究を計画した。前半では、喫煙関連疾患である慢性閉塞性肺疾患と GSTP1 の 105 番及び 114 番目のアミノ酸の多型との association study を行った。後半においては、肺由来細胞に喫煙負荷をかけ、その viability における GSTP1 の役割を GSTP1 の over-expression 及び under-expression cell を作成し検討した。以上の研究により、下記の結果を得ている。

1. glutathione S-transferase P1 (GSTP1)における 2 箇所の遺伝子多型、すなわち exon-5 に位置する Ile105Val と exon-6 における Ala114Val に関して、COPD との association study を行った。

GSTP1/Ile105 homozygote の割合は対照群に比較し COPD 患者群において有意に高率であった(COPD 群 79%, 対照群 52%。P=0.009)。他の genotype と比較しての GSTP1/Ile105 homozygote の COPD 罹患についての odds ratio は 3.5 (95% CI 2.7~4.6)であった。GSTP1 の 114 座位の遺伝子多型については、2 群間に差は認められなかった。

以上より、GSTP1/Ile105 homozygote が COPD 患者群において有意に高い

割合で見られたことから、GSTP1/Ile105 の homozygote は喫煙に対する解毒による防御能が他の genotype に比べ低いと考えられた。

2. ヒト肺由来細胞における喫煙防御能と GSTP1 との関わりを検討すべく、ヒト肺線維芽細胞由来の cell line である HFL-1 を用いて、異なった濃度の cigarette smoke extract (CSE)を培地より調整し希釈系列を作成、各濃度の CSE 下における生存能を経時的に検討し、その過程における apoptosis, necrosis の関与について検討した。また、先述の association study により COPD の病態と関連があると考えられた解毒酵素の一つである GSTP1 について、喫煙障害への防御に関する寄与について検討を行った。

HFL1 について、CSE は 10-25%の低濃度においては優位に apoptosis を、また 50-100%の高濃度においては necrosis を引き起こした。10-25% CSE においては時間依存性に necrosis の細胞の割合が増加した。

その後、CSE による細胞障害に対する GSTP1 の防御能に関して検討を行った。Apoptosis, necrosis 双方について検討するために 25% CSE を用いた。HFL-1 の necrosis は GSTP-1 の高発現により減少し、逆に antisense vector の transfection により増加した。Apoptosis については、各 transfectant 間にて有意な差は認められなかった。

以上、本論文により、xenobiotic enzyme の一つであり肺胞、呼吸細気管支を含む末梢気道に強く発現している GSTP1 が喫煙による肺障害に対する防御の能力を有し、肺気腫を含む喫煙関連肺疾患の発症を防ぐ上で重要な役割を果たしていることが示唆された。本研究は未知の部分の多い COPD の病態形成過程の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。