

●ファイザーフェローシップ報告

タバコ煙がマクロファージ貪食能に及ぼす影響とその機序

峰松 直人

はじめに

今回、2005年度日本呼吸器財団ファイザーフェローシップを頂戴し、2005年9月より2008年8月まで米国ボストン Brigham and Women's Hospital ならびに University of Pittsburgh において Steven D. Shapiro 先生のご指導のもと研究留学させていただいた。留学中の研究内容につき報告する。

目 的

研究のテーマは、マクロファージのアポトーシス細胞貪食能に及ぼすタバコ煙の影響の検討である。生理的細胞死であるアポトーシスは慢性・急性炎症において、障害された構築細胞や集積してくる炎症細胞に多数みられるが、アポトーシスに陥った細胞は、マクロファージをはじめとする貪食細胞によって貪食除去されることで、二次性壊死になることを抑止される。最近10年ほどの緒家の研究により、アポトーシス細胞を貪食したマクロファージでは抗炎症性サイトカインや抗プロテアーゼ^{1)~3)}、増殖因子⁴⁾⁵⁾の産生が亢進して、炎症の終焉ならびに修復が促進されていると考えられる。

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は、気道の慢性炎症、細胞外マトリックスの破壊、肺胞腔の拡大を病理学的特徴とする疾患である。COPD 患者の肺マクロファージの *ex vivo* での貪食能は、非喫煙者から採取したものと比して低下していること⁶⁾、また COPD 肺においてアポトーシス細胞が多く検出されること⁷⁾⁸⁾ などから、アポトーシス細胞の増加とともにその貪食除去の低下がみられることが明らかとなり、病因への寄与が推察されている。タバコ煙は先進国における COPD の既知の原因として最も重要なものであり、*in vitro* においてタバコ煙で処理した細胞外基質との共培養によりマクロファージの貪食能は低下することが報告されているが⁹⁾、タバコ煙のマクロファージへの直接的な影響、またそれらの機

序についてはつい最近まで報告されていなかった¹⁰⁾。

本研究では、タバコ煙がマクロファージ貪食能に及ぼす影響を *in vitro* ならびに *in vivo* において検討し、その機序につき考察を加えた。

結果と考察

in vitro において、ヒト末梢血単球由来のマクロファージを貪食細胞とし、ヒト末梢血好中球を UV 処理したアポトーシス好中球を貪食する能力について検討した。その結果、タバコ抽出液への曝露により、マクロファージの貪食能は用量、時間依存性に抑制されることが示された。また *in vivo* の系においては、マウスにタバコ煙を吸入させた後にアポトーシス好中球を気管内投与し、肺マクロファージ貪食能を検討したところ、初回タバコ煙曝露後数時間、一過性の貪食能低下がみられた。仮説のとおり、タバコ煙の曝露によりマクロファージのアポトーシス細胞貪食能は低下することが明らかになったので、その機序につきさらに検討した。

アポトーシス細胞貪食の過程で貪食細胞は細胞膜アクチンを再構築、形態変化を起こすが、その制御は RhoGTPase ファミリーの RhoA と Rac1 のバランスによることがわかっている。最近の論文で、タバコ煙により細胞骨格変化に抑制的に働く RhoA 活性が上昇することが報告されたが⁸⁾¹⁰⁾、我々は RhoA と競合的に働く Rac1 の活性について検討してきた。マウスマクロファージ系培養細胞である RAW264.7 細胞をタバコ抽出液で処理して細胞溶解のち、イムノプロットングにより Vav1-Rac1 経路¹¹⁾¹²⁾の活性を検討した。

タバコ抽出液により活性型 Rac1 は減少して、その活性化分子であるリン酸化 Vav も減少を認め、Vav1-Rac1 経路の抑制が、これまでに報告された RhoA 活性化、マクロファージ細胞表面のアポトーシス細胞認識分子発現低下¹³⁾¹⁴⁾と並び、タバコ煙による貪食抑制の一機序であると推察された。

結論として、タバコ煙は細胞内のアクチン再構築に関するシグナル経路を抑制することで、アポトーシス細胞の貪食に必須な過程である細胞骨格変化を阻害し、結果としてアポトーシス細胞の貪食を阻害すると考えられる。今後の研究の方向性として、貪食能の低下が COPD の

連絡先：峰松 直人

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

慶應義塾大学医学部呼吸器内科

(E-mail: mine7010@hotmail.co.jp)

病因にいかにかかわってくるのかを検討したいと考えている。

謝辞：3年間の留学研究に際して、ファイザーフェローシップを授与くださいました日本呼吸器財団に、この場を借りまして厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Fadok VA, et al. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998; 101: 890-8.
- 2) Huynh ML, et al. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF-beta1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002; 109: 41-50.
- 3) Odaka C, et al. Murine macrophages produce secretory leukocyte protease inhibitor during clearance of apoptotic cells: implications for resolution of the inflammatory response. *J Immunol* 2003; 171: 1507-14.
- 4) Morimoto K, et al. Alveolar macrophages that phagocytose apoptotic neutrophils produce hepatocyte growth factor during bacterial pneumonia in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24: 608-15.
- 5) Golpon HA, et al. Life after corpse engulfment: phagocytosis of apoptotic cells leads to VEGF secretion and cell growth. *FASEB J* 2004; 18: 1716-8.
- 6) Hodge S, et al. Alveolar macrophages from subjects with chronic obstructive pulmonary disease are deficient in their ability to phagocytose apoptotic airway epithelial cells. *Immunol Cell Biol* 2003; 81: 289-96.
- 7) Yokohori N, et al. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 2004; 125: 626-32.
- 8) Imai K, et al. Correlation of lung surface area to apoptosis and proliferation in human emphysema. *Eur Respir J* 2005; 25: 250-8.
- 9) Kirkham PA, et al. Macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils is compromised by matrix proteins modified by cigarette smoke and lipid peroxidation products. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318: 32-7.
- 10) Richens TR, et al. Cigarette smoke impairs clearance of apoptotic cells through oxidant-dependent activation of RhoA. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 1011-21.
- 11) Scott RS, et al. Phagocytosis and clearance of apoptotic cells is mediated by MER. *Nature* 2001; 411: 207-11.
- 12) Wu Y, et al. A role for Mer tyrosine kinase in alphavbeta5 integrin-mediated phagocytosis of apoptotic cells. *J Cell Sci* 2005; 118: 539-53.
- 13) Pons AR, et al. Phenotypic characterisation of alveolar macrophages and peripheral blood monocytes in COPD. *Eur Respir J* 2005; 25: 647-52.
- 14) Hodge S, et al. Smoking alters alveolar macrophage recognition and phagocytic ability: implications in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 748-55.