

学 位 論 文 要 旨

氏 名

木村 朱里



論 文 題 目

「Inhibition of Extracellular signal-regulated kinase pathway
suppresses tracheal stenosis in a novel mouse model.」

(Extracellular signal-regulated kinase 経路阻害による
気管狭窄マウスモデルの狭窄予防効果)

指 導 教 授 承 認 印

山下 拓



Inhibition of Extracellular signal-regulated kinase pathway suppresses tracheal stenosis in a novel mouse model.

(Extracellular signal-regulated kinase 経路阻害による

気管狭窄マウスモデルの狭窄予防効果)

氏名 木村朱里

【目的】

気管狭窄は、熱傷や長期挿管・外傷・レーザー後などの過剰な創傷治癒反応により限られたスペースに余剰な肉芽形成、瘢痕化、繊維化を生じることによって起きる難治性の疾患であり QOL を著しく損なう。細胞外シグナル調節キナーゼ (Extracellular signal-regulated kinase: ERK) は、遺伝子発現の調節・分裂などに関与する細胞内シグナルであるが、近年創傷治癒への関与も示唆されている。過剰な瘢痕形成により生じる気管狭窄に ERK が関与し、ERK 経路の阻害が治療標的となり得ると考えた。今回、マウスにおける気管狭窄モデルの作成を行い、ERK 経路阻害による狭窄予防の効果を検討することを目的として研究を行った。

【方法】

1. 気管狭窄モデルの作成

C57BL/6 マウスを使用し以下の 3 群に分けて検討した。

Control 群：無処置

Fake Surgery 群：気管切開（第 4-5 気管輪にて開窓）のみ施行

焼灼群：気管切開後、電気メスを気管孔より挿入し上方前壁を焼灼

焼灼群と Fake Surgery 群は気管孔を開存とし、1 週間後に 3 群とも第 1-2 気管を摘出し、横断面の組織学的評価を行った。

狭窄率は $(1 - (\text{気管内腔の面積} / \text{気管軟骨で囲われた面積})) \times 100\%$ とした。

2. 気管内リン酸化 ERK 発現の局在

方法 1 で作成したモデルを使用し、以下の 2 群に分けて検討した。

焼灼群：気管焼灼 5 分後に 1-2 気管を摘出し横断面の組織学的評価を行った。

Control 群：無処置気管の 1-2 気管を摘出し横断面の組織学的評価を行った。

両群ともリン酸化 ERK (p-ERK) 1/2 抗体を用いて免疫組織学的評価を行った。

基底細胞抗体である p63 抗体を用いて p-ERK1/2 抗体との蛍光二重染色を行った。

3. 気管内リン酸化 ERK 発現の経時変化

以下の 2 群に分けて検討した。

焼灼群：気管焼灼 5, 30, 90 分後に第 1-2 気管を摘出し Western Blot (WB) を行い ERK1/2, p-ERK1/2 を定量した。

Control 群：無処置気管を摘出し WB を行い同様に定量した。

ERK リン酸化の指標として p-ERK1/ERK1, p-ERK2/ERK2 を計測した。

4. MEK 阻害剤投与によるリン酸化 ERK の経時変化

以下の 2 群に分けて検討した。

MEK 阻害剤投与群：気管焼灼 30 分前に MEK 阻害剤を腹腔内投与

非投与群：気管焼灼 30 分前に DMSO を腹腔内投与

両群とも焼灼 5, 30, 90 分後気管を摘出し WB にて ERK1/2, p-ERK1/2 を定量した。

5. MEK 阻害剤投与後の気管狭窄率

以下の 3 群に分けて検討した。

単回治療群：MEK 阻害剤を焼灼 30 分前に腹腔内投与

連日治療群：MEK 阻害剤を焼灼 30 分前と 24, 48, 72, 96 時間後に腹腔内投与

Control 群：DMSO を焼灼 30 分前と 24, 48, 72, 96 時間後に腹腔内投与

各群とも焼灼 1 週間後に気管摘出し、狭窄率を比較した。

統計解析は Kruskal-Wallis 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

1. 焼灼群気管は粘膜下組織の肥厚により著明な狭窄を認めた。Control 群と比較して焼灼群での狭窄率は有意に増加した。
2. Control 群、焼灼群ともにリン酸化 ERK は気管粘膜上皮基底細胞に認めた。
3. p-ERK1/ERK1 は焼灼 5 分、30 分後に上昇し 90 分後に有意に低下した。
p-ERK2/ERK2 は焼灼 5 分後に有意に上昇した。
4. MEK 阻害剤投与群では非投与群と比較し 5, 30, 90 分後に p-ERK1/2 発現の低下を認めた。
5. 連日治療群は無治療群と比較して狭窄率が有意に低下した。

【考察】

本研究より気管熱傷後、炎症期初期から ERK の活性化が生じていると考えられた。MEK 阻害剤を炎症期初期のみではなく増殖期にかけて持続的に投与することで気管狭窄が抑制されたことより、創傷後長期間にわたって ERK が活性化し続けていると考えられた。焼灼気管において、炎症期から増殖期にかけての ERK の過剰な活性化により線維芽細胞の過剰な増殖、コラーゲン沈着を来し、気管狭窄に至ると考えられた。本研究では MEK 阻害剤の全身投与を行なったが、臨床的な副作用の点からは将来的に Drug Delivery System などによる安全な投与の確立も検討される。

【まとめ】

過剰な瘢痕形成により生じる気管狭窄に ERK リン酸化が関与していると考えた。熱傷後早期に ERK のリン酸化を一定期間持続的に阻害することで気管狭窄を予防した。臨床での難治性気管狭窄に対する新規治療への可能性が示唆された。