

|         |                        |
|---------|------------------------|
| 氏名(本籍)  | 木村透(千葉県)               |
| 学位の種類   | 博士(医学)                 |
| 学位記番号   | 博甲第3799号               |
| 学位授与年月日 | 平成17年3月25日             |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当           |
| 審査研究科   | 人間総合科学研究科              |
| 学位論文題目  | Th1/Th2反応の調節による肺線維症の制御 |
| 主査      | 筑波大学教授 医学博士 大塚藤男       |
| 副査      | 筑波大学教授 医学博士 住田孝之       |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 鬼塚正孝      |
| 副査      | 筑波大学講師 博士(医学) 清水律子     |

## 論文の内容の要旨

### (目的)

肺線維症は種々の持続性炎症の終末像であるが、線維形成過程は必ずしも明らかではない。近年、肺局所に集積する炎症細胞が放出するサイトカインが線維化に重要な役割を果たすことが知られるようになり、Th1 サイトカインであるインターフェロン(IFN) $\gamma$ は線維芽細胞の増殖やコラーゲン産生を抑制し、一方Th2 サイトカインであるIL-4やIL-13はこれらを亢進する。即ちTh1/Th2 サイトカインが肺線維症の発症、進行を正負に調節しうることを示唆されている。そこで、マウスのブレオマイシン肺線維症モデルを用いて肺内でTh1/Th2 サイトカインバランスを調節し、その肺線維症進展に対する影響、肺線維症制御の可能性を検討した。

### (対象と方法)

- 1) 野生型 C57BL/6 マウスと同系の NKT 細胞欠損マウスに $\alpha$ -ガラクトシルセラミド( $\alpha$ -GalCer) 10 $\mu$ g、もしくは溶媒を腹腔内投与、翌日にブレオマイシン 0.5mg もしくは生理食塩水を気管内投与し肺線維症モデル群および対照群を作成した。マウスの生存率を各群で比較するとともに経時的に肺組織を採取し線維化の程度を形態学的、および生化学的に評価し、さらに肺組織中の種々のサイトカイン濃度を ELISA 法にて測定した。
- 2) 野生型 C57BL/6 マウスおよび同系の GATA-3 (Th2 サイトカインの産生に重要な転写因子) 過剰発現(トランスジェニック) マウスにブレオマイシンもしくは生理食塩水を投与し、投与後の生存率、肺の線維化、およびサイトカイン産生を上記同様に検討した。

### (結果)

- 1) 野生型マウスでは $\alpha$ -GalCer 投与により、ブレオマイシンの肺線維化が有意に抑制され、死亡率が有意に低下した。NKT 細胞欠損マウスではこのような変化は起こらなかった。野生型マウスの肺組織では $\alpha$ -GalCer 投与により IFN $\gamma$  が有意に増加したが、NKT 細胞欠損マウスでは変化を認めなかった。FACS による解析では IFN $\gamma$  の主たる産生細胞は T 細胞であった。更に、野生型マウスではブレオマイシン投与による transforming growth factor(TGF)- $\beta$  の発現誘導が $\alpha$ -GalCer 投与により抑制されたが、NKT 細胞

欠損マウスではこれらの発現は抑制されなかった。野生型マウスに対するこれらの  $\alpha$ -GalCer の効果は IFN- $\gamma$  中和抗体を投与することで消失した。

- 2) GATA-3 トランスジェニックマウスでは、野生型マウスに比しプレオマイシン投与後の肺の線維化は高度であり、死亡率が有意に上昇した。更に同マウスでは肺内の IFN- $\gamma$  濃度は有意に低値であり、TGF- $\beta$  の発現が亢進していた。GATA-3 トランスジェニックマウスに浸透圧ポンプを用いて IFN- $\gamma$  を持続投与すると、プレオマイシン投与後の肺線維化は軽快し、生存率が改善した。

#### (考察)

$\alpha$ -GalCer は IFN- $\gamma$  を誘導し、TGF- $\beta$  の発現を抑制してプレオマイシンの肺線維化を有意に抑制することを明らかにした。 $\alpha$ -GalCer は NKT 細胞を活性化し肺内の IFN- $\gamma$  産生を亢進することにより抗線維化作用を示していると考えた。IFN- $\gamma$  は NKT 細胞ではなく、同細胞により活性化された T 細胞が主として産生している可能性を示した。

一方、Th2 のバイアスの生じた GATA-3 トランスジェニックマウスは高度のプレオマイシンによる肺線維化を起こすが、IFN- $\gamma$  を持続投与すると肺線維化は軽快し、生存率が改善する所見より、Th2 サイトカインが線維化促進に働き、Th1 サイトカインが抑制に働くことが明らかになった。

肺組織における Th1/Th2 バランスは肺線維症の形成に大きく影響し、特に IFN- $\gamma$  の肺線維症抑制因子としての重要性が証明された。従来、IFN- $\gamma$  の抗線維化作用は報告されているが、IFN- $\gamma$  は様々な作用を有し副作用や特定の疾患を増悪することもある。肺局所特異的に IFN- $\gamma$  産生を促すために  $\alpha$ -GalCer の吸入投与などによる肺線維症治療の可能性も追求する予定である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

これまで肺線維化に Th1/Th2 サイトカインが種々関与することが知られていたが、本研究はプレオマイシンによる肺線症マウスモデルに IFN- $\gamma$  を誘導する  $\alpha$ -GalCer を投与して、肺線維化が有意に抑制されることを明らかにした。さらに、Th2 のバイアスの生じた GATA-3 トランスジェニックマウスは高度のプレオマイシンによる肺線維化を起こすが、IFN- $\gamma$  を持続投与すると肺線維化は軽快し、生存率が改善する所見より、Th2 サイトカインが線維化促進に働き、Th1 サイトカインが抑制に働くことを明らかにした。肺組織における Th1/Th2 バランスは肺線維症の形成に大きな影響を与え、特に IFN- $\gamma$  の肺線維症抑制因子としての重要性をプレオマイシンによる肺線維化マウスモデルを用いて明らかにしている。今後、IFN- $\gamma$  の抗線維化作用機序の検討、IFN- $\gamma$  あるいは  $\alpha$ -GalCer などによる肺線維症治療の可能性の追求など検討すべき課題も多く残されているが、従来、推測されてきた肺線維化の抑制機序の一端を明らかにした点で本研究は意義あるものと言える。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。