

|              |                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | A histologically distinctive interstitial pneumonia induced by overexpression of the interleukin 6, transforming growth factor $\beta$ 1, or platelet-derived growth factor B Gene                                 |
| Author(s)    | 吉田, 光宏                                                                                                                                                                                                             |
| Citation     | 大阪大学, 1997, 博士論文                                                                                                                                                                                                   |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                    |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40064">https://hdl.handle.net/11094/40064</a>                                                                                                                                |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                    |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | 吉 田 光 宏                                                                                                                                                                                                                                               |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                                             |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 3 0 2 4 号                                                                                                                                                                                                                                         |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 9 年 3 月 25 日                                                                                                                                                                                                                                      |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学研究科内科系専攻                                                                                                                                                                                                                            |
| 学 位 論 文 名     | A histologically distinctive interstitial pneumonia induced by overexpression of the interleukin 6, transforming growth factor $\beta$ 1, or platelet-derived growth factor B Gene<br>(IL-6, TGF- $\beta$ 1, 及び PDGF-B 遺伝子の過剰発現により誘導される組織学的に異なる間質性肺炎) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 岸 本 忠 三<br><br>(副査)<br>教 授 吉 崎 和 幸    教 授 荻 原 俊 男                                                                                                                                                                                         |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

肺の線維化は肺胞構造の損傷と胞隔への炎症細胞浸潤に続く、過剰で遷延した修復過程の結果、肺胞腔および間質に過剰な細胞外マトリックス (ECM) が沈着する結果起こるとされている。肺線維症患者の肺細胞や生検組織の解析より複数のサイトカインが肺の線維化に関与していると報告されているが、そのメカニズムの詳細は未だ解明されておらず、個々の因子が線維化の過程にどのように関わるか明らかではない。

本研究では肺線維症の肺局所で発現の増強が認められる因子のうち、代表的な炎症性サイトカインである interleukin (IL) - 6 とその受容体 (IL-6 R), ECM 増生作用をもつ transforming growth factor (TGF) -  $\beta$  と線維芽細胞増殖作用をもつ platelet-derived growth factor (PDGF) - B の各遺伝子を、ラット肺に in vivo 遺伝子導入し、これらの因子の過剰発現が肺組織にどのような変化を誘導するかを検討した。さらに、マウス肺線維症モデルに対しサイトカイン活性の抑制因子の遺伝子を導入し、その肺病変に与える影響を観察した。

### 【方法】

(1) 初期蛋白 E 1 A を欠損させ増殖能を消失させた Adenovirus vector (Adex1SR) の発現ユニットに、空カセット、ヒト IL-6 遺伝子、可溶性 IL-6 レセプター遺伝子を各々組み込んで、それぞれの発現 vector である Adex1SRWL, Adex1SRIL-6 および Adex1SRIL-6 R を作製した。12週雄 Wistar ラットに経気管的にそれぞれのベクターを注入し、3日後に肺を摘出し、組織学的検討を行った。

(2) chicken  $\beta$ -actin promoter の下流にヒト TGF- $\beta$  1 あるいはヒト PDGF-B 遺伝子を組み込み、発現プラスミド pAct-TGF  $\beta$  1 および pAct-PDGF を作製した。センダイウイルス (HVJ; hemagglutinating virus of Japan) の膜融合能を利用して効率よく遺伝子導入を行う HVJ-liposome 法を用い、これらの発現プラスミド (20  $\mu$ g) を経気管的にラット肺に in vivo 遺伝子導入を行った。導入後 7, 14 日目に肺を摘出し、組織学的検討を行った。

(3) 7 週齢雄 C57BL/6 マウスに経静脈的に Bleomycin (Bleo) を 100mg/kg 投与し、肺線維症モデルを作製した。chicken  $\beta$ -actin promoter の下流に、マウス PDGF- $\beta$  受容体のシグナル伝達部位を欠失し細胞外ドメインの塩基配列をコードする遺伝子を組み込み、可溶性 PDGF 受容体 (XR) の発現プラスミドを作製した。HVJ-liposome 法を用い、この発現プラスミド (5  $\mu$ g) を Bleo 投与後 3 日目のマウスに経気管的に投与し、21 日目に肺

を摘出した。摘出したマウス肺の全肺湿重量および右肺ハイドロキシプロリン量を測定し、肺病変に対して組織学的検討を加えた。

#### 【成績】

(1) Adex1SRIL-6 と Adex1SRIL-6 R を同時に投与して3日後には、肺泡マクロファージと単核球の著明な肺胞腔内への集簇、肺胞壁内への浸潤を認めた。これに対して Adex1SRWL, Adex1SRIL-6 および Adex1SRIL-6 R をそれぞれ単独で投与したラットの肺においては、正常肺と比較してほとんど変化を認めなかった。

(2) TGF- $\beta$ 1 遺伝子を導入した肺においては肺胞壁は肥厚し、紡錘型の細胞が著明に増生していた。しかし炎症細胞の浸潤は顕著ではなかった。PDGF-B 遺伝子を導入した肺においても線維化肺様の所見を呈したが、TGF- $\beta$ 1 遺伝子導入肺ほど線維化は著明でなく同時に軽度の炎症細胞浸潤が散見された。

(3) Bleo 投与による肺湿重量、ハイドロキシプロリン量の増加は、XR 遺伝子投与により有意に抑制され、病理変化の改善も認めた。

#### 【総括】

導入するサイトカイン遺伝子に依存して異なった組織像の間質性肺炎が惹起された。すなわち IL-6 / IL-6 R は胞隔炎を惹起し TGF- $\beta$ , PDGF は肺の線維化を誘導した。このことは肺の炎症から線維化に至る一連の過程において各サイトカインが異なる役割を担っていることを示唆し、TGF- $\beta$ , PDGF はその過程における最終段階により深く関与するものと考えられた。一方、PDGF の生理活性を抑制すると考えられる XR 遺伝子をモデルマウスに導入することで肺の線維化が抑制されたことより、PDGF の肺の線維化への密接な関与が確認された。以上のことは TGF- $\beta$  および PDGF 活性の制御が肺線維症に対する新しい治療戦略となり、XR がそのひとつの方策であることを示唆するものである。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は詳細が不明である肺線維症の病態の解明のために、生体内遺伝子導入法という新しい手技を応用し、サイトカインを肺局所で過剰発現させることによって、肺線維症の成立に果たす因子の因果関係を明確にした研究である。複数のサイトカインがネットワークを形成しており、従来の患者材料による検討では、特定の因子がどのように病態に関与しているかを証明することは容易ではなかった。本研究では導入した因子とその結果惹起された組織型の間に明確な因果関係を見出すことができ、しかもそれぞれの組織が線維化を伴わない胞隔炎と細胞浸潤を伴わない線維化という対照的な組織型を完成しえた。これは従来からいわれていた、胞隔炎に続く過修復の結果としての肺線維症という捉え方に対し、物質のレベルでの裏付けをもたらしたものとして高く評価することが出来る。

また本研究により可溶性 PDGF 受容体が PDGF の活性を抑制することにより、ブレオマイシンの肺線維症モデルの進展が抑制されることが示された。このことは肺の線維化の病態における PDGF の関与の重要性を示唆する結果であると同時に、可溶性 PDGF 受容体が未だ治療法の確立されていない肺線維症の治療に応用できる可能性を示唆するものである。

さらに、本研究で使用された HVJ リポソーム法は本学で開発された遺伝子導入法であるが、非増殖型アデノウイルスベクターと同様非増殖性の気道肺胞上皮細胞への生体内遺伝子導入法として高い導入効率を持つことが今回初めて示された。これは今後の呼吸器疾患の遺伝子療法を考慮する場合、非常に魅力的な方策と考えられ、今後の研究の発展性に期待される。

以上、本研究は学位の授与に値するものと評価する。