Osaka University Knowledge Archive

Title	ブレオマイシン肺傷害に対するinterleukin-10の抑制効果
Author(s)	新井, 徹
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41648
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　新井（あらい）　徹（とおる）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　14492　号

学位授与年月日　平成11年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当
医学系研究科内科系専攻

学位論文名　**ブレオマイシン肺傷害に対するinterleukin－10の抑制効果**

論文審査委員　（主査）
教　授　松澤　佑次

（副査）
教　授　吉崎　和幸　　教　授　金田　安史

論文内容の要旨

【目的】

Idiopathic pulmonary fibrosis（IPF）は肺に進行性の線維化をきたす原因不明の疾患であり，発症後の5年生存率は50％と予後不良である。これまで強力な抗炎症作用を有するステロイドによる治療が試みられ，一部の症例で一時的な呼吸機能の改善を認めるものの線維化の進行は抑制できず，予後の改善効果はないと考えられている。したがって新たな治療法の開発は重要な課題とされてきた。一方，IL－10はマクロファージや好中球などの炎症細胞の機能を抑制する抗炎症性サイトカインの1つである。さらに線維芽細胞のコラーゲン産生を増強するtransforming frowth factor－βのmonocyteからの分泌の抑制や皮膚線維芽細胞のコラーゲン産生の抑制に働き，肺の線維化を直接抑制する可能性もある。そこでブレオマイシン肺傷害モデルを用いて，肺の炎症と線維化に対するIL－10の効果を検討した。さらに肺線維芽細胞のコラーゲン産生に対するIL－10の直接効果についても検討を加えた。

【方法ならびに成績】

7週齢，オスのC57BL／6マウスに対して塩酸ブレオマイシン（Bleo）0.8mg／kgを経気道的に投与し，ブレオマイシン肺傷害モデルを作製した。炎症の指標として気管支肺胞洗浄液（bronchoalveolar lavage fluid；BALF）中のmyeloperoxidase（MPO）活性，線維化の指標として全肺中のhydroxyproline量を経時的に測定した。MPO活性はBleo投与後7日目，hydroxyproline量は21日目がピークであった。したがって，以下のin vivoにおける検討では，Bleo投与後7日目の炎症所見と21日目の線維化所見について比較した。

ブレオマイシン肺傷害に対するIL－10の抑制効果を検討した。human IL－10（hIL－10）の投与方法としてはHemagglutinating Virus of Japan（HVJ）－liposome法を用いた。hIL－10発現ベクターまたはbalanced salt solution（BSS）のみを含むHVJ－liposome（各々IL10－HVJ，Cont－HVJ）を7週齢，オスのC57BL／6マウスに腹腔内投与した。IL10－HVJ投与マウスにおいては腹腔洗浄液中2.47±0.53pg／ml，血清中2.23±2.30pg／mlで発現を認めた。HVJ－liposome投与後3日後にBleoを経気道的に投与し，7日目の炎症に対する効果を検討した。BALF中のMPO活性はCont－HVJ群（0.232±0.105）に比較してIL10－HVJ群（0.110±0.040）で有意（P＜0.01）に抑制された。reverse transcriptase-polymerase chain reaction（RT－PCR）法にてBALF細胞中のTNF－αmRNAを半定量した。Cont－HVJ群（0.229±0.097）に比較してIL10－HVJ群（0.120±0.061）ではTNF－

αmRNA は有意（P＜0.05）に減少した。Bleo 投与後21日目の肺の線維化に対する効果を検討した。hydroxyproline 量は Cont－HVJ 群（405.5±69.4μg／lung）に比べて IL10－HVJ群（307.8±23.2μg／lung）で有意（P＜0.01）に抑制された。

肺線維芽細胞のコラーゲン産生に対する IL－10の直接効果を検討した。肺線維芽細胞の細胞株 WI－38を TGF－β（0.1～10ng／ml）または IL－10（0.2～20ng／ml）で刺激し，type1 collagen mRNA 量を competitive PCR 法にて定量した。type1 collagen mRNA は TGF－β刺激により dose－dependent に増加し，IL－10刺激により dose dependent に減少した。また，TGF－β（10ng／ml）刺激による type1 collagen mRNA の増加を IL－10（20ng／ml）は有意に抑制した。

【総括】

以上の結果より抗炎症性サイトカインである IL－10は，ブレオマイシンによる肺の炎症とともにその後の線維化をも抑制した。また肺線維芽細胞を用いた in vitro の検討でも，IL－10は定常状態および TGF－β刺激下でのコラーゲン産生を抑制することが示された。したがって IL－10は肺の線維化抑制効果を有し，IPF に対しても有効な治療法となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は抗炎症性サイトカインである IL－10が，肺線維症モデルであるブレオマイシン肺傷害マウスに発生する肺の炎症と線維化を抑制しうるか，肺線維芽細胞のコラーゲン産生に対していかなる作用を有するかを検討したものである。IL－10はブレオマイシンの投与で発生する肺への好中球浸潤や肺の炎症細胞中の TNF－alpha mRNA とともに肺内のコラーゲン増加をも抑制し，肺の炎症と線維化をともに抑制することが示された。また，IL－10の抗線維化作用の機序の１つとして肺線維芽細胞の constitutive なコラーゲン産生と共に，TGF－beta 刺激によるコラーゲン産生の増強をも抑制することが in vitro の検討にて示された。肺線維症においては，TGF－beta の産生とその作用を抑制することが重要な課題であり，すでに知られている monocyte からの TGF－beta 産生抑制作用と併せて，IL－10が重要な因子であることが明らかにされた。さらに慢性に肺の線維化が進行し，呼吸不全に至る特発性肺線維症に対する治療法は確立していないが，IL－10が新たな治療法となる可能性が示された。したがって，本研究は学位の授与に値すると考えられる。