

Title	A p38 MAPK inhibitor, FR-167653, ameliorates murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis
Author(s)	松岡, 洋人
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44429">https://hdl.handle.net/11094/44429</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">〈a href="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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	まつ 松 かつ 岡 洋 ひと
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17285 号
学位授与年月日	平成 14 年 9 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	A p38 MAPK inhibitor, FR-167653, ameliorates murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. (p38 MAPK 阻害剤、FR-167653 によるマウスブレオマイシン肺線維症の形成抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 吉崎 和幸 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

肺の線維化において、様々なサイトカインやアポトーシスが関与していることが証明、示唆されている。しかし、如何なる刺激や病態がこれらのサイトカインの経時的、持続的な発現やアポトーシスを誘導し、線維化形成に至る原因となっているのかはほとんどわかっていない。そこで、肺線維症における細胞内シグナルに注目することがこの命題に対する解答を導きうるのではないかと考える。

ストレスキナーゼと称される p38 MAPK は様々な細胞外の刺激により活性化され、TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  といった炎症性サイトカインの発現の重要な経路として知られ、アポトーシスにも関与している。そこで、マウスブレオマイシン肺線維症モデルを用い、その形成における p38 MAPK の関与について検討する。また、特異的 p38 MAPK 阻害剤として、pyrazolotriazine 化合物である FR-167653 を用い、それが肺線維症の治療薬となりうるかを検討する。

#### 【方法ならびに成績】

ICR マウスにブレオマイシン (BLM) を気管内もしくは静脈内投与し、21 日間の経過で肺線維症モデルを作製した。治療群は気管内投与 1 日前から最長 14 日後まで、FR-167653 を 50、100、150 mg/kg BW のいずれかの投与量で連日皮下注した。

BLM 気管内投与後、経時的に気管支肺胞洗浄液細胞を回収、ウエスタンブロットを行ったところ、経過を通して p38 MAPK の持続的なリン酸化を確認した。また、ATF-2 のリン酸化を認め、これは FR-167653 の投与により抑制された。また、BLM 静注モデルにおいて、血清中に TNF- $\alpha$  を検出したが、これは FR-167653 投与により用量依存性に抑制された。

BLM 肺線維症 21 日目の肺組織中ヒドロキシプロリン量はコントロールに比し、約 100% の増加となったが、FR-167653 50、100、150 mg/kg BW の連日投与により、それぞれ 32%、66%、62% の減少をみた。また、同時期の肺の組織学的検索では、BLM 暴露のみでは虚脱した肺泡領域を埋め尽くす線維化病変と牽引性気管支拡張を気管支周囲から胸膜直下に至るまで認めたが、FR-167653 の投与により、病変は有意に改善していた。

さらに、BLM 投与後 9 日目の肺組織の TUNEL 染色では、特に炎症細胞の浸潤のみられる部位や線維化巣におい

て TUNEL 陽性細胞が多く認められ、これは FR-167653 により有意差を持って減少した。

また、BLM 投与肺の mRNA を用いたノーザンブロットでは増強した TNF- $\alpha$  と CTGF の発現を FR-167653 が抑制した。

これら肺線維症形成抑制効果に加えて、治療薬としての FR-167653 の投与により、BLM 肺線維症に伴う体重増加不良を有意に改善した。

#### 【総括】

今回、BLM 暴露により気管支肺胞洗浄液細胞の p38 MAPK が活性化され、ATF-2 のリン酸化に至ること、また、p38 MAPK が BLM による TNF- $\alpha$  発現のシグナル伝達の主要な役割を担うことが示された。

さらに、p38 MAPK の阻害により BLM 肺線維症形成が抑制された。しかし、この抑制効果は阻害剤の増量にても、約 60% までの部分抑制に留まり、p38 MAPK 以外にも BLM 肺線維症の形成に関与するシグナル伝達経路が存在することが示唆される。

肺線維症において、気管支及び肺胞上皮細胞のアポトーシス、また、TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインや CTGF などの向線維化サイトカインの発現がみられ、病態形成に重要であることが報告されているように、p38 MAPK 阻害による肺線維化形成抑制の機序として、今回、抗アポトーシス効果とサイトカイン発現抑制を示した。また、線維芽細胞の機能においても、p38 MAPK が重要な役割を果たすという報告も多々あるため、この点でも機序解析が必要と考えられる。

BLM 肺線維症の形成において p38 MAPK が重要な役割を演じていることを示した。p38 MAPK の作用点のさらなる解析が、肺線維化の機序の解明に寄与すると考えられる。また、肺線維症における p38 MAPK 以外の細胞内シグナルの研究も必要であると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

肺線維症において、様々なサイトカインが経時的、持続的に発現しており、上皮傷害に続く持続的な上皮細胞のアポトーシスが線維化を引き起こすことが証明、提唱されている。しかし、如何なる刺激や病態がこれらのサイトカインの経時的、持続的な発現やアポトーシスを誘導し、線維化形成に至る原因となっているのかは解明されていない。そこで、間質性肺炎、肺線維症における細胞内シグナルに注目することが肺線維化研究において、病態、原因解明の足がかりになるのではないかという観点に立ち、本研究がなされ、肺線維症における p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) の関与を初めて明らかにした。

ブレオマイシン (BLM) 暴露により気管支肺胞洗浄液細胞の p38 MAPK が活性化され、ATF-2 のリン酸化に至ること、また、p38 MAPK が BLM による TNF- $\alpha$  発現のシグナル伝達の主要な役割を担うことが初めて示された。また、p38 MAPK の阻害により BLM 肺線維症の形成が抑制された。しかし、この抑制効果は阻害剤の増量にても、約 60% までの部分抑制に留まり、p38 MAPK 以外にも BLM 肺線維症の形成に関与するシグナル伝達経路が存在することが示唆され、他のシグナルについても研究を要することを指摘している。さらに、p38 MAPK 阻害による肺線維化形成抑制の機序として、抗アポトーシス効果とサイトカイン (TNF- $\alpha$  及び CTGF) 発現抑制の関与を明らかにした。

BLM 肺線維症の形成において p38 MAPK が重要な役割を果たしていることを新たに明確に示し、肺線維症における細胞内シグナルの研究の重要性を見出したこと、また、p38 MAPK 阻害剤が臨床において、肺線維症治療薬となりうる可能性を提示したことは意義深く、学位授与に値するものと考えられる。