

## [別紙 2]

### 審査の結果の要旨

菊地 和彦

本研究は、CRP のヒト肺線維芽細胞に対する作用を報告した初めての研究である。心臓血管病の領域では、CRP は疾患を増悪させる危険因子として認識されている。特発性肺線維症などの肺疾患において、肺の線維化形成に關与する肺線維芽細胞の遊走に対する CRP の効果について検討し以下の結果を得た。

① Human fetal lung fibroblasts である HFL-1、W I -38 の 2 系統の細胞で行った。HFL-1、W I -38 を 10% 血清加 F12 培養液で、Sub-confluent となったところで trypsinize して実験に使用した。Boyden' s blind-well chamber technique で HFL-1、W I -38 の遊走を検討した。Chemoattractant としては細胞外マトリックスのひとつである fibronectin を選択した。細胞外マトリックスは、細胞間の不溶性成分の総称である。fibronectin、laminin、collagen、elastin 等が知られている。炎症の治癒過程で動員されるが、細胞の増殖、分化、遊走に及ぼす作用も知られている。細胞外マトリックスのなかで fibronectin が特に注目されるのは、血清と損傷部位の双方で認められ、線維芽細胞の強力な chemoattractant であるからである。Chemoattractant として選択した fibronectin に対し遊走する肺線維芽細胞への CRP の効果を濃度依存性に認めた。CRP は肺線維芽細胞の遊走に対し、抑制的に作用することを明らかにした。

② fibronectin に対し遊走する肺線維芽細胞に p38 MAP 阻害剤である SB203580、SB202190 とともに遊走の抑制効果のみとめた。SB202190 は p38MAPK の核内転写因子である Activating Transcription Factor 2(ATF-2) の磷酸化を阻害する。SB203580 は p38MAPK の下流のシグナルである MAPKAPK2 の活性化を抑制し、Heat Shock Protein 27(HSP27)の磷酸化を妨げる。ウェスタンブロット法によるリン酸化 p38 MAPK に対する CRP の効果解析の結果、CRP、p38 MAP 阻害剤とも肺線維芽細胞の p38 MAPK の抑制効果を認めた。CRP の肺線維芽細胞の遊走抑制の細胞内機序として p38 MAPK の関与が示唆された。

③ この研究では肺線維芽細胞の遊走を CRP が抑制することを示した。使用された CRP の濃度 (1-100  $\mu$ g/ml) は生体の濃度の 0.1-10 mg/dl と一致する。この濃度で生物学的活性を示した。創傷治癒過程において組織機能を維持するために働く間質細胞の制御バランスにおいて CRP が重要な役割を占めていることを示し、線維化抑制の治療手段として重要であることを明らかにした。

CRP のヒト肺線維芽細胞の遊走抑制効果と p38 MAPK 活性化の抑制効果は、CRP が肺線維症の内在性モジュレーターである可能性を示唆した。また同時に治療

薬としての可能性も期待できる。さらなる研究が進み単なる炎症の指標であった CRP が臨床の場で治療薬として利用される日が来ることが期待される。

以上より本研究では、心臓血管病の領域では、疾患を増悪させる危険因子として認識されている CRP が特発性肺線維症などの肺疾患においては疾患を軽快させる可能性を示した。特発性肺線維症には有効な治療法が無く、新たな治療法の可能性を示したため、学位の授与に値すると考えられる。