

【別紙 2】

審査の結果の要旨

氏名 山内 康宏

本研究は、特発性肺線維症を代表とする呼吸器疾患の肺組織線維化過程において重要な役割を演じていると考えられている上皮間葉転換(Epithelial Mesenchymal Transition: EMT)と間質性肺炎の炎症性病態との関連を明らかにするため、肺胞上皮細胞株(A549細胞)をTransforming Growth Factor(TGF)- β 1にてEMTを誘導する系にて、炎症性サイトカインのEMTに及ぼす効果について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1 肺胞上皮細胞株 A549 細胞に TGF- β 1 刺激にて EMT を誘導する系において、形態学的に敷石状外観の上皮細胞から紡錘形・延長した間葉系細胞に転換することが確認され、また、免疫染色にて上皮細胞マーカーである E-cadherin の発現が減少し間葉系マーカーである vimentin の発現が増加していることが確認され、qPCR 法にても蛋白レベルと同様に E-cadherin mRNA の発現抑制と vimentin mRNA の発現促進を認め、A549 細胞において TGF- β 1 にて EMT が誘導されることが示された。また、この変化が TGF- β 1 の濃度依存性であることが示された。

2 炎症性サイトカインである TNF- α , IL-4, IFN- γ の単独刺激では、A549 細胞に EMT は誘導されないが、これらサイトカインと TGF- β 1 とで共刺激を行うと、TNF- α /TGF- β 1 の存在下では、形態的に TGF- β 1 単独刺激よりさらに延長した紡錘形の間葉系細胞に転換し、EMT がより強く誘導されることが示され、mRNA レベルにおいても、TNF- α /TGF- β 1 の存在下で、E-cadherin mRNA の発現は TGF- β 1 単独より抑制傾向を認め、vimentin mRNA の発現は有意に促進され、EMT が増強されることが示された。

3 EMT を生じた間葉系細胞は、形態変化だけではなく、gel contraction 法により機能的にも収縮能を獲得していることが示された。TGF- β 1 単独より TNF- α /TGF- β 1 の共存下で増強された EMT を生じた間葉系細胞は、収縮能もより増強される傾向が示された。

4 EMT を生じた細胞の収縮能は、TGF- β 1 で収縮促進され、TNF-でも収縮促進され、TGF- β 1/TNF- α でさらに収縮促進されることが示された。肺線維症の治療薬として用いられている IFN- γ や corticosteroid での収縮能への影響を検討した所、IFN- γ では細胞収縮能が抑制され、corticosteroid は細胞収縮に影響を与えないが、TGF- β 1 存在下では、IFN- γ や corticosteroid に影響されずに、収縮が促進されていることが示された。

以上、本論文は肺胞上皮細胞株 A549 細胞において、TGF- β 1 による EMT に及ぼす炎症性サイトカインの効果を、形態学的な変化と機能的指標となる収縮能に着目して評価し、炎症性サイトカインである TNF- α が TGF- β 1 による EMT を促進して、さらに EMT を生じた細胞が収縮能を獲得し、収縮能が TNF- α により増強されることを明らかにした。本研究は、組織線維化過程において線維芽細胞以外である上皮細胞から EMT を生じた細胞が組織線維化に深く関与していることを示唆し、線維化の機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。