

## 審査の結果の要旨

氏名 漆山 博和

本研究は間質性肺炎において、病的線維化に重要な役割を果たしていると考えられている早期線維化巣について、病型ごとの性質の違いを明確にするため、産生される細胞外基質、特に IV 型コラーゲンに注目し、病型ごとの IV 型コラーゲンの沈着の程度の違いをヒト肺組織を用いて解析した。さらに早期線維化巣に集簇する線維芽細胞自身に、沈着する IV 型コラーゲンがどのような影響を与えているかについて、培養ヒト肺線維芽細胞系を用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト肺組織と免疫組織化学を用いた解析にて、I 型、III 型コラーゲンは通常型間質性肺炎(UIP)、びまん性肺胞傷害(DAD)、器質化肺炎(OP)のいずれの組織型の早期線維化巣においても著明な沈着を認めた。一方、IV 型コラーゲンは UIP と DAD の早期線維化巣には明らかな沈着を認めたが、OP の早期線維化巣では沈着を認めなかった。また IV 型コラーゲンの沈着と同様、UIP と DAD の早期線維化巣では、線維芽細胞は $\alpha$ -平滑筋アクチン( $\alpha$ -SMA)が強陽性であったが、OP の早期線維化巣の線維芽細胞は $\alpha$ -SMA は弱陽性～陰性であった。さらに UIP 症例の連続切片を用いた検討にて、IV 型コラーゲンの沈着は $\alpha$ -SMA 陽性の筋線維芽細胞の周囲に認められた。さらに、早期線維化巣に沈着する IV 型コラーゲンは $\alpha$ 1 鎖と $\alpha$ 2 鎖であり、 $\alpha$ 3～ $\alpha$ 6 鎖の沈着は認められなかった。これらの結果から、I、III 型コラーゲンの沈着と比べて、間質性肺炎の早期線維化巣における IV 型コラーゲンの沈着は、予後不良な間質性肺炎(UIP, DAD)の早期線維化巣により多く認められ、線維芽細胞の筋線維芽細胞化とより強く関連する病態であることが示唆された。
2. 線維化促進因子である Transforming growth factor- $\beta$ 1を添加し、肺線維芽細胞を培養すると、 $\alpha$ -SMA 陽性の筋線維芽細胞に変化し、濃度依存的に IV 型コラーゲンの産生が増大した。また、産生される IV 型コラーゲンは $\alpha$ 1 鎖と $\alpha$ 2 鎖であり、 $\alpha$ 3～ $\alpha$ 6 鎖の産生は認められなかった。この結果は、ヒト肺組織における UIP および DAD の早期線維化巣に沈着する IV 型コラーゲンは $\alpha$ 1 鎖、 $\alpha$ 2 鎖のみであり、 $\alpha$ 3 鎖～ $\alpha$ 6 鎖の沈着を認めないという *in vivo* の結果と一致した。

3. ボイデンチャンバー法を用いた解析では、IV型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖および $\alpha 2$ 鎖の発現を抑制した線維芽細胞では遊走能が増大し、さらにこの遊走能の増大は $\alpha 1$ 鎖および $\alpha 2$ 鎖を添加することで抑制された。また、 $\alpha 1$ 鎖、 $\alpha 2$ 鎖の発現を抑制された線維芽細胞では、Focal adhesion kinase(FAK)のリン酸化が増大していた。IV型コラーゲンを始め細胞外基質は細胞表面のインテグリンと結合し、FAKのリン酸化を介して各種細胞機能を亢進させる作用を有している。一方で、IV型コラーゲンのNC1端由来のポリペプチドには、インテグリンと結合するもFAKのリン酸化を阻害することが報告されている。線維芽細胞が分泌する不完全なIV型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖および $\alpha 2$ 鎖にも同様に、インテグリン-FAK pathwayを阻害し、線維芽細胞の遊走を抑制する作用があることが推察された。

以上、本研究は予後不良な間質性肺炎の早期線維化巣の筋線維芽細胞の周囲に、IV型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖と $\alpha 2$ 鎖が著明に沈着すること、線維芽細胞が分泌する $\alpha 1$ 鎖と $\alpha 2$ 鎖が線維芽細胞自身の遊走に影響を与えることを証明した。本研究の結果から、早期線維化巣に沈着するIV型コラーゲンが、線維芽細胞の遊走を抑制し、さらなる細胞外基質を沈着させることによって病的線維化を促進し、間質性肺炎の予後を悪化させている可能性が推察された。本研究は、間質性肺炎の難治性線維化の病態生理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。