

氏名	たばち はる 田端 千春
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2948号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	All-trans retinoic acid modulates radiation-induced proliferation of lung fibroblasts via IL-6/IL-6R system (放射線照射による肺線維芽細胞の増殖におけるインターロイキン6を介した All-trans retinoic acid の抑制効果)
論文調査委員	(主査) 教授 湊 長博 教授 富樫かおり 教授 平岡真寛

### 論 文 内 容 の 要 旨

肺癌は最も多い悪性疾患の一つで最近増加傾向にあるため、その有効な治療法の開発が望まれる。肺癌患者の約40%に放射線療法が施行されており、高容量ほど治療効果が期待されるが、放射性肺臓炎、肺線維症などの重大な副作用のため照射量の減量を要することが多く、また発症した場合治療への反応は必ずしも良好でなく、肺機能の低下や呼吸困難などにより患者のQOLが低下し、時に致死的になる。現在までに、放射性肺臓炎、肺線維症の患者血清中や気管支鏡下のBAL中における、照射前後での炎症性サイトカインなどについて検討した臨床研究は散見されるが、未だ細胞レベルでの病態については不明な点が多い。発症には、血管内皮細胞、肺胞上皮細胞、T細胞、肺胞マクロファージや肺線維芽細胞などが関連するとされる。まず放射線傷害により、血管透過性が亢進し肺胞や間質の浮腫、炎症細胞の浸潤が誘導され、その修復過程の破綻として肺線維芽細胞が増殖し、不可逆的に線維化に至る。放射性肺臓炎、肺線維症の病態メカニズムを解明するため、その主たる構成細胞の一つであり、その最終的な役割を果たす肺線維芽細胞に着目して今回ヒト肺線維芽細胞株の培養系を用いて実験を行った。まず $\gamma$ 線照射による肺線維芽細胞からのサイトカインの産生につき検討し、インターロイキン6(IL-6)の産生が照射の容量依存性に刺激されるのを見出した。この系においてIL-1 $\beta$ およびTNF $\alpha$ は照射前後ともに産生が認められず、一方TGF- $\beta$ は照射により産生が増加するが照射強度の容量依存性は見られなかった。これよりIL-6の関与の重要性が考えられさらに検討を進めた。IL-6には種々の作用が知られており、ヒト骨髄腫細胞の自己増殖因子でもあるが、最近all-trans retinoic acid (ATRA)がその増殖を抑制すると報告されている。ATRAは急性前骨髄球性白血病の治療薬でその機序はPML-RAR $\alpha$ への直接作用による細胞の分化促進であるが、骨髄腫におけるIL-6/IL-6R系への作用機序は十分に解明されていない。今回肺線維芽細胞の増殖におけるIL-6/IL-6R系へのATRAの影響について検討した。照射依存性のIL-6産生刺激はIL-6mRNAレベルの増加を伴い、NF-kBp65の活性増強がそれに先立って観察され、ATRAによるこれらの減弱作用が認められた。また細胞表面のIL-6Rおよびgp130の照射およびATRA投与による変化はFACSによる解析では発現自体が検出されなかったが、照射後のIL-6Rとgp130の免疫染色による細胞質内発現およびmRNAレベルの増加とこれらに対するATRAによる抑制が認められ、IL-6/IL-6Rオートクラインの関与も考えられた。さらに肺線維芽細胞はIL-6濃度依存性に増殖するが、その影響も薬物学的投与量のATRAないし抗IL-6R抗体によって抑制された。ATRAによるこれらの影響はPKC $\delta$ 阻害剤 rottlerinによって抑制されるため、ATRAはPKC $\delta$ を介した経路でその効果を発揮すると考えられた。以上の細胞培養系の実験に加え最終的にin vivoの系として照射2ヵ月後のマウス肺におけるIL-6mRNAの上昇が、マウス腹腔内に投与されたATRAによって抑制されることを実証した。今回の研究により放射性肺障害の予防や治療へのATRAの有効性が示唆され、肺癌など肺野領域への放射線治療において照射線量増量や、以前からATRAの抗腫瘍効果が報告されていることから放射線治療との併用による治療効果の上昇が期待しうる。

## 論文審査の結果の要旨

放射性肺臓炎／肺線維症の病態成立機構には炎症性サイトカインが関与することが知られている。本研究は放射性肺臓炎／肺線維症において主要な役割を果たすとされている肺線維芽細胞に注目し、複数の培養肺線維芽細胞株とマウスを用いて放射線照射によるインターロイキン6 (IL-6) 産生亢進および all-trans retinoic acid (ATRA) による IL-6 を介した線維芽細胞増殖の抑制効果について検討したものである。

まず、培養線維芽細胞による検討で、肺線維芽細胞からの IL-6 の産生が放射線照射により容量依存性に上昇し、また、IL-6 の濃度依存性に肺線維芽細胞の増殖が亢進することを見出した。次に、IL-6 が骨髄腫細胞の自己増殖因子であり、ATRA がその増殖を抑制することが知られていることから、肺線維芽細胞の増殖における IL-6/IL-6R 系への ATRA の影響について検討を行い、ATRA が PKC $\delta$  を介した経路で、照射による NF-kBp65, IL-6mRNA レベルと IL-6 産生の増加を抑制することを示した。さらに、胸部照射2ヵ月後のマウス肺における IL-6mRNA の上昇が、腹腔内に投与された ATRA により抑制されることを示した。以上の研究は、放射線照射による IL-6 の産生亢進と、ATRA によるその抑制効果を示しており、放射性肺障害の予防・治療に対する ATRA 投与の可能性を示唆している。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年1月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。