

論文の要約

報告番号	甲 乙	医 第 1185 号	氏 名	木 下 勝 弘
学位論文題目	Antifibrotic Effects of Focal Adhesion Kinase Inhibitor in Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice			
<p>特発性肺線維症は過剰な細胞外マトリックスの沈着とリモデリングに特徴付けられる，原因不明かつ予後不良の疾患であり，有望な治療法の開発が喫緊の課題である。一方 Focal Adhesion Kinase (FAK) は細胞の増殖，運動，接着，生存など様々な要素に関わる非レセプター型のチロシンキナーゼであり，transforming growth factor β (TGF-β) による線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化に重要な働きを持つことが知られている。これまで FAK が線維芽細胞によるマトリックスのリモデリングに関わるとする報告や，腎臓でのメサンギウム細胞によるコラーゲン産生に関わるとする報告などはなされているが，肺の線維化と FAK シグナルの関係について述べられた報告はない。そこで今回申請者は FAK 阻害剤 (TAE226) による肺線維化抑制効果について検討した。</p> <p><i>In vitro</i> での細胞増殖の評価には ^3H-チミジン取り込み試験を用いた。また肺線維芽細胞での α-smooth muscle actin 及び collagen I の発現を Western Blot にて確認した。肺線維症モデルはブレオマイシンを含んだ浸透圧ポンプをマウスの皮下に留置し，約 7 日間持続投与することにより作成した。TAE226 はブレオマイシン投与後 14 日目～28 日目にかけて連日経口投与した。28 日目にマウスを sacrifice し，右肺のコラーゲン含有量の定量を行うと共に，左肺組織片の H&E 染色による組織学的な線維化の評価を Ashcroft score を用いて 2 人の病理医により判定した。また 7 日目と 28 日目に気管支肺胞洗浄を行い細胞数と細胞分画を評価した。肺組織についてはさらに Ki67 染色を行い増殖細胞を評価すると共に，マウス肺及び特発性肺線維症患者の肺組織に対して prolyl 4-hydroxylase とリン酸化 FAK 抗体による二重染色を行い評価した。</p> <p>その結果，TAE226 は各種増殖因子による増殖刺激を受けたマウス及びヒト肺線維芽細胞の増殖を抑制することを確認した。また Western Blot では TAE226 が collagen I の発現を抑制すると共に，α-smooth muscle actin の発現を抑制することが確認され，線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を抑制することが示された。</p> <p>動物実験では TAE226 が肺の組織学的な線維化を抑制し，Ashcroft score を有意に低下させた。また肺組織中のコラーゲン量も減少させた。28 日目の気管支肺胞洗浄では，TAE226 は洗浄液中のリンパ球分画を有意に減少させ，マウス肺組織中の Ki67 陽性の増殖細胞数は TAE226 投与により減少していた。また免疫染色では，線維化巣において prolyl-4-hydroxylase 陽性の間質細胞に一致して FAK の Tyr397 のリン酸化がみられ，肺線維芽細胞で FAK が活性化されていることが示唆された。さらに，これらの細胞の FAK-Tyr397 のリン酸化は TAE226</p>				

投与群では明らかに抑制されていた。また IPF 患者の肺組織について同様の染色を行ったところ、肺胞隔壁の線維化部位ならびに線維芽細胞巣において prolyl-4-hydroxylase 陽性の線維芽細胞に一致して FAK-Tyr397 のリン酸化が確認され、IPF 患者肺線維芽細胞においても FAK が活性化されていることが示唆された。一方、線維芽細胞巣を覆う再生上皮にも同様の変化が確認された。

以上より、FAK 阻害剤による線維芽細胞増殖抑制作用、線維化マーカーの発現抑制作用、ブレオマイシン誘発マウス肺線維症モデルでの組織学的な肺線維化抑制作用が示され、FAK が今後非常に有望な肺線維症の治療標的になり得ると考えられた。