

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1008 号	氏 名	末 木 茜
論文審査担当者	主 査 花 岡 正 幸 副 査 多 田 剛・大 森 栄		

(論文審査の結果の要旨)

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) の肺線維化の原因として、II型肺胞上皮細胞の epithelial mesenchymal transition (EMT) が考えられている。IPF 患者の肺胞洗浄液ではマクロファージが増加し、肺胞領域では局所的に低酸素状態が生じていると考えられる。本研究では、低酸素環境下においてII型肺胞上皮細胞とマクロファージがどのように関連して線維化を誘導するか、II型肺胞上皮細胞の EMT に注目して検討した。

THP-1 細胞は phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) でマクロファージに分化させた (THP-1 マクロファージ)。下部のウェル内に A549 細胞 (II型肺胞上皮細胞)、上部のインサート内に THP-1 マクロファージを入れて、室内気酸素 (21% O<sub>2</sub>) あるいは低酸素 (2% O<sub>2</sub>) 環境下で単培養もしくは両細胞の共培養を行った。EMT 分子マーカー発現をウェスタンブロット法と蛍光免疫染色法で解析した。また、transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 阻害剤または IL-1 $\beta$  中和抗体を用いて A549 細胞の EMT 誘導を阻害した。TGF- $\beta$ 1 と IL-1 $\beta$  の mRNA 発現は real-time PCR 法で解析した。

その結果、末木茜は次の結論を得た。

1. THP-1 マクロファージと共培養した A549 細胞の EMT 変化は低酸素環境下で強く誘導された。
2. 低酸素環境下で A549 細胞と THP-1 マクロファージの TGF- $\beta$ 1 mRNA の発現が増加した。
3. 低酸素環境によって増強した A549 細胞の EMT 変化は TGF- $\beta$ 1 依存性であった。
4. 低酸素環境下で THP-1 マクロファージの IL-18 mRNA の発現が増加した。
5. IL-18 中和抗体によって、THP-1 マクロファージと A549 細胞の共培養上清中の TGF- $\beta$ 1 分泌が減少した。

これらの結果より、A549 細胞の EMT には、低酸素環境およびマクロファージ活性化の 2 つの条件が必要であり、生体でも線維化が生じる場合、この 2 つの条件を同時に満たす必要性を示唆した。また、A549 細胞の EMT には、低酸素環境下で分泌が増加する TGF- $\beta$ 1 および IL-18 が関与しており、IPF 発症のメカニズム解明に繋がると考えられた。よって、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。