



---

肺および気道線維化のメカニズムの解明とその制御

---

(課題番号 : 16590747)

平成 16 年度～平成 18 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (C) ) 研究成果報告書



平成 19 年 3 月

研究代表者 : 横山 彰仁  
広島大学大学院医歯薬学総合研究科 助教授

研究組織

研究代表者：横山彰仁（広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 助教授）

研究分担者：河野 修興（広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 教授）

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

|        | 直接経費    | 間接経費 | 合計      |
|--------|---------|------|---------|
| 平成16年度 | 1 3 0 0 | 0    | 1 3 0 0 |
| 平成17年度 | 1 1 0 0 | 0    | 1 1 0 0 |
| 平成18年度 | 1 0 0 0 | 0    | 1 0 0 0 |
| 総計     | 3 4 0 0 | 0    | 3 4 0 0 |

研究発表

（1）学会誌等

- 1) Ikegami Y, Yokoyama A, Haruta Y, Hiyama K, Mendoza C, Kohno K. Circulating Natural Killer T Cells in Patients with Asthma. **J Asthma**, 2004;41:877-82.
- 2) Irifune K, Yokoyama A, Sakai K, Watanabe A, Katayama H, Ohnishi H, Hamada H, Nakajima M, Kohno N, Higaki J. Adoptive Transfer of Th1 Clones Inhibits Eosinophilic Inflammation and Airway Hyperresponsiveness in a Murine Model of Asthma. **Eur Respir J** 2005;25:653-9
- 3) Mitsuta K, Yokoyama A, Kondo K, Nakajima M, Kohno N. Polymorphism of MUC1 mucin gene is associated with susceptibility and prognosis of lung adenocarcinoma. **Oncol Rep** 2005;14:185-9
- 4) Murakami H, Yokoyama A, Kondo K, Nakanishi S, Kohno N, Miyake M. Circulating aminopeptidase N/CD13 is an independent prognostic factor in patients with non-small cell lung cancer. **Clin Cancer Res** 2005;11:8674-8679
- 5) Ohshimo S, Yokoyama A, Hattori N, Ishikawa N, Hirasawa Y, Kohno N. KL-6, a Human MUC1 Mucin, Promotes Proliferation and Survival of Lung Fibroblasts. **Biochem Biophys Res Comm** 2005;338:1845-1852
- 6) Ito R, Yokoyama A, Hamada H, Yasuhara Y, Kohno N, Higaki J. Air Trapping in Patients with Asthma May Represent Remodeling of Small Airways. **J Asthma** 2006;43:125-9.
- 7) Yokoyama A, Kondo K, Nakajima M, Matsushima T, Takahashi T, Nishimura M, Bando M,

- Sugiyama Y, Totani Y, Ishizaki T, Ichiyasu H, Suga M, Hamada H, Kohno N. Prognostic Value of Circulating KL-6 in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **Respirology**, 2006;11:164-8
- 8) Nakatani E, Yano S, Matsumori Y, Goto H, Kakiuchi S, Mugumura H, Bando Y, Uehara H, Hamada H, Kto K, Yokoyama A, Sone S. Novel orthotopic implantation model of human malignant pleural mesothelioma (EHMES-10 cells) highly expressing vascular endothelial growth factor and its receptor. **Cancer Sci** 2006;97:183-91
- 9) Doi M, Yokoyama A, Kondo K, Ohnishi H, Ishikawa N, Hattori N, Kohno N. Anti-tumor effect of the anti-KL-6/MUC1 monoclonal antibody through exposure of surface molecules by MUC1 capping. **Cancer Sci** 2006;97:420-9
- 10) Shoda H, Yokoyama A, Nishino R, Nakashima T, Ishikawa N, Haruta Y, Hattori N, Naka T, Kohno N. Overproduction of collagen and diminished SOCS1 expression are causally linked in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis. **Biochem Biophys Res Commun** 2007;353:1004-10
- 11) Inata J, Hattori N, Yokoyama A, Ohshimo S, Doi M, Ishikawa N, Hamada H, Kohno N, Circulating KL-6/MUC1 mucin carrying sialyl Lewis x oligosaccharide is an independent prognostic factor in patients with lung adenocarcinoma. **Int J Cancer**, 2007 Feb 9; [Epub ahead of print]
- 12) Sakurai J, Nakajima M, Hattori N, Morita T, Suzuki T, Yokoyama A, Kohno N. Differential expression of MUC1 mucin with various glycolation during lung development. **European Journal of Histochemistry**, in press.
- 13) Ohshima M, Yokoyama A, Ohnishi H, Hamada H, Kohno N, Higaki J, Naka T. Overexpression of Suppressor of Cytokine Signaling-5 Augments Eosinophilic Airway Inflammation in Mice. **Clin Exp Allergy**, in press

## (2) 口頭発表

1. Kohno N, Yokoyama A, Kondo K, Nakajima M. Prognostic value of circulating KL-6 in idiopathic pulmonary fibrosis. The 14th European Respiratory Society Annual Congress, Glasgow, Scotland, 2004.9.4-8
2. Ohnishi H, Yokoyama A, Hamada H, Higashi J, Kohno N. IL-10-producing CD4+ T cells are essential for the development of airway hyperresponsiveness. The 14th European Respiratory Society Annual Congress, Glasgow, Scotland, 2004.9.4-8
3. Oshima M, Yokoyama A, Ohnishi H, Hamada H\*, Kohno N, Higaki J. Overexpression of suppressor of cytokine signaling-5 augments eosinophilic inflammation in an asthma model. The 14th European Respiratory Society Annual Congress, Glasgow, Scotland, 2004.9.4-8

4. Ikegami Y, Yokoyama A, Haruta Y, Hiyama K, Kohno N. Circulating natural killer T cells in patients with asthma. The 14th European Respiratory Society Annual Congress, Glasgow, Scotland, 2004.9.4-8
5. Nakashima T, Yokoyama A, Watanabe A, Konishi F, Ohnishi H, Katayama H, Hamada H, Shoda H, Nakajima M, Naka T, Kohno N. Suppressor of cytokine signaling-1 gene therapy ameliorate lipopolysaccharide-induced lung injury in mice. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, Japan, 2004.10.4-7
6. Shoda H, Yokoyama A, Nakashima T, Nakajima M, Kohno N, Naka T. SOCS-1 is an essential factor for IFN-gamma-mediated inhibition of collagen synthesis. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, Japan, 2004.10.4-7
7. Ohnishi H, Yokoyama A, Hirata S, Nakashima T, Onari Y, Kagawa K, Nakajima M, Kohno N. Asthmatic phenotype induced by adoptively transferred CD4+ T cells from mice with or without airway exposure to antigen. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, Japan, 2004.10.4-7
8. Ohnishi H, Yokoyama A, Hamada H, Higaki J, Kohno N. IL-10 produced by CD4+ T cells is essential for the development of airway hyperresponsiveness via suppression of endogenous IL-12. The 15th European Respiratory Society Annual Congress, Copenhagen, Denmark, 2005.9.17-21
9. Sakurai J, Hattori N, Yokoyama A, Kohno N. Differential expressions of MUC1 mucin with various glycosylation during lung development. 16th European respiratory society annual congress, Munich, Germany, Sep.2-6, 2006.
10. Ito R, Hamada H, Yokoyama A, Yasuhara Y, Higaki J. Evaluation of regional lung ventilation using xenon-enhanced computed tomography in patients with asthma. 16th European respiratory society annual congress, Munich, Germany, Sep.2-6, 2006.
11. Furonaka M, Hattori N, Tanimoto T, Yokoyama A, Kohno N. Effect of suplatast tosilate on bleomycin-induced lung fibrosis in mice. 16th European respiratory society annual congress, Munich, Germany, Sep.2-6, 2006.
12. Ohshimo S, Yokoyama A, Hattori N, Ishikawa N, Hirasawa Y, Kohno N. KL-6, a human MUC1 mucin, promotes proliferation and survival of lung fibroblasts. 16th European respiratory society annual congress, Munich, Germany, Sep.2-6, 2006.
13. Shoda H, Yokoyama A, Hattori N, Kohno N, Naka T. The inhibitory effect of IFN-gamma on collagen production is partially mediated by SOCS-1. 16th European respiratory society annual congress, Munich, Germany, Sep.2-6, 2006.
14. Furonaka M, Hattori N, Tanimoto T, Taooka Y, Yokoyama A, Kohno N. Effect of suplatast tosilate on bleomycin-induced lung fibrosis in mice. The 11th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Kyoto, Japan, 2006.11.19-22

15. Senoo T, Hattori N, Tanimoto T, Furonaka M, Kohno N. Successful suppression of plasminogen activator inhibitor-1 by RNA interference in a mouse model of bleomycin-induced lung injury. The 11th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Kyoto, Japan, 2006.11.19-22
16. 庄田浩康、横山彰仁、中島拓、西野亮平、春田吉則、河野修興、仲哲治. IFN- $\gamma$ によるコラーゲン産生抑制機序の検討第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会(2006.11.2-4 東京)

### (3) 出版物

- 1) 庄田浩康、横山彰仁.  
SOCS-1 ノックアウトマウス.  
分子呼吸器病. 8 : 503-508, 2004
- 2) 横山彰仁.  
気管支喘息とロイコトリエン拮抗薬の臨床.  
日本内科学会雑誌. 93:2656-2661, 2004
- 3) 大成洋二郎、横山彰仁、河野修興.  
呼吸器疾患における血清 KL-6 およびサーファクタント蛋白濃度の比較検討.  
分子呼吸器病 9 : 50-53, 2005
- 4) 横山彰仁、大西広志.  
IL-10/IL-12 軸を介した新たな気道過敏性の制御機構.  
呼吸 24:201-208, 2005
- 5) 横山彰仁、池上靖彦、河野修興.  
NKT 細胞と気管支喘息 : 病態発現における NKT 細胞の関与.  
分子呼吸器病 9 : 320-24, 2005
- 6) 横山彰仁.  
インターロイキン 6 /可溶性インターロイキン 6 レセプター 日本臨牀臨時増刊 「広  
範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査」第 6 版 63:72-74, 2005.
- 7) 横山彰仁.  
末梢気道病変とその評価 : overview. アレルギー・免疫 12:1534-1539, 2005
- 8) 濱田泰伸、横山彰仁. 治療の up date : 吸入ステロイド薬.  
日本内科学会雑誌. 95:1458-1463, 2006
- 9) 大成洋二郎、横山彰仁、河野修興.  
シアル化糖鎖抗原 KL-6. 検査と技術 (増刊号) 34 : 1166-1169, 2006
- 10) 大成洋二郎、横山彰仁、河野修興. [呼吸器疾患のバイオマーカー 末梢血]  
呼吸と循環 54: 607-613, 2006

# 研究成果

本研究の成果を、1) 気道および肺の線維化におけるTリンパ球の役割、2) 線維芽細胞からのコラーゲン産生の制御、3) Suppressor of cytokine signaling-1はブレオマイシン誘導性肺傷害を減弱する、といった3つのテーマに分けて記載する。

## 1. 気道および肺の線維化におけるTリンパ球の役割

肺線維症に関しては、IPF患者ではTh2優位の病態であると考えられる。マウスのCD4+細胞をIL-2とIL-12またはIL-2とIL-4により刺激するとそれぞれTh1細胞、Th2細胞に分化誘導することが可能で、また長期間の刺激を加えることにより非可逆的になることが報告されている。

このようなTh1、Th2細胞を受け身移入し、対応する抗原に暴露することにより、モデルマウスに起きる反応が研究されている。これまでの報告では、Th1、Th2リンパ球の受け身移入、経気道的チャレンジでは、気道周囲の細胞浸潤が主であり、それぞれ、好中球、好酸球が主体となるとの報告がある。また、Th1、Th2リンパ球を同時に受け身移入し、抗原を経気道的にチャレンジすると、Th1細胞がTh2細胞の浸潤を促進することから、より強い好酸球性の気道炎症を来すと報告されている。

我々は過去にTh1クローンの受身移入により、抗原を経気道的にチャレンジして肺でのTh1活性化を引き起こすと、気道過敏性を伴わない、かつ、線維化を伴わない可逆性の胞隔炎(alveolitis)を引き起こすことを報告した(Irifune K et al. Eur Respir J, 12003; 21: 11-8)。このような系で、肺の線維化に至るには何がさらに必要であるかを考慮したとき、Th1細胞の活性化に引き続きTh2細胞の活性化が重要ではないかと考え、本研究を行った。

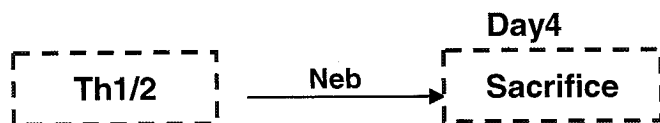
【仮説】肺の線維化にTh2が関与している。

【目的】肺線維化にTh2活性化が不可欠であることを証明する。

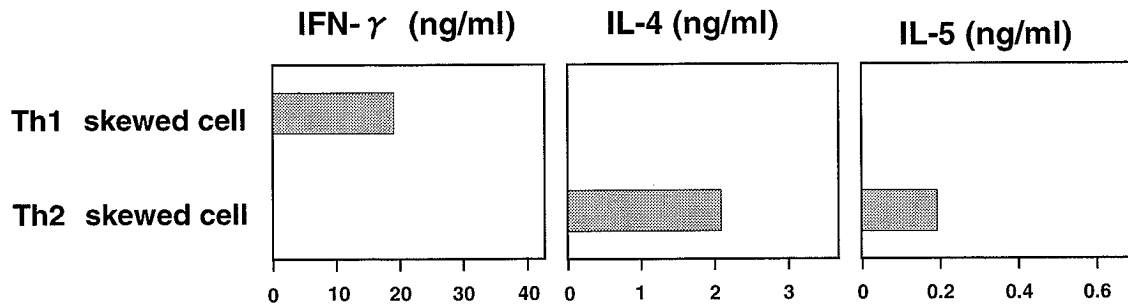
【方法と結果】

### 1) 抗原特異的Th1/2細胞の作成

OVA特異的TCRトランスジェニックマウス(D0.11.10)から採取したリンパ球からCD4+細胞をMACSを使用し精製。このCD4+細胞を脾臓細胞・IL-2と共に、IL-12・抗IL-4抗体を加えてTh1細胞に、IL-4を加えてTh2細胞に分化させる。過去の報告から、非可逆性とするために、刺激培養は1週間周期で3周期、合計3週間施行した。3週間刺激後、培養上清中サイトカインをCBA(cytokine beads array)法を用いて分析した。



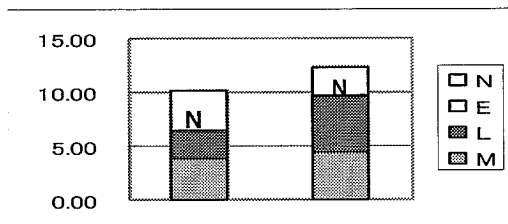
下図に示すように、Th1 リンパ球培養上清は IFN $\gamma$  を・Th2 リンパ球培養上清からは IL-4 および IL-5 を検出し、分化誘導がなされていることを確認した。



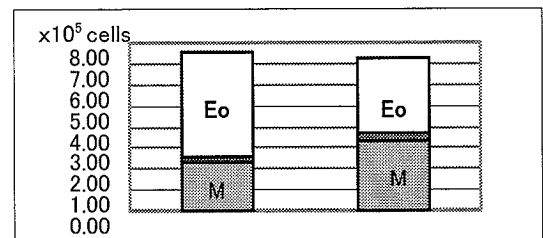
2) 上記で3週間培養した Th1・Th2 リンパ球を更に1週間培養したのち、 $5 \times 10^6$  個ずつマウス尾静脈より受身移入した後、1%OVA を20分間ネブライザー吸入させ、抗原暴露した。抗原暴露は3日間連日施行し、4日目に sacrifice。BALF 細胞分析・組織の検討を行った。その結果、下図のように Th1 リンパ球を受身移入したモデルマウスでは BALF 中に好中球の増加を認め、組織像は alveolitis の像を呈していた。

Th2 リンパ球を受身移入したマウスでは BALF 中に好酸球の増加を認め、組織像では気道周囲の好酸球浸潤、気道上皮の杯細胞の過形成像を認めた。

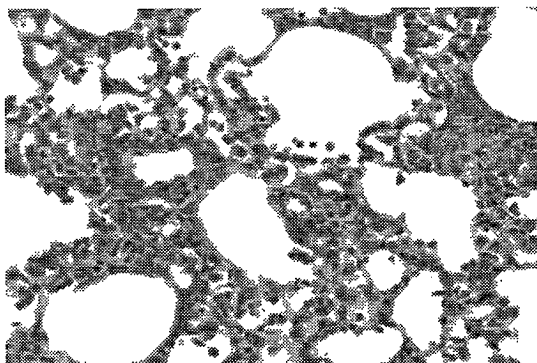
BALF (Th1 モデル)



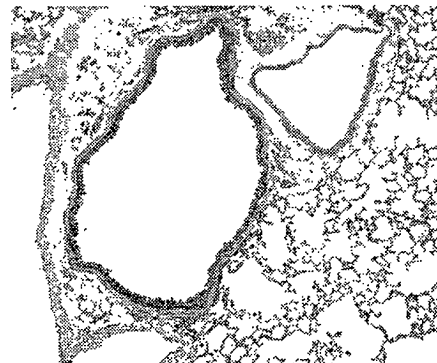
BALF (Th2 モデル)



肺組織 HE x400 (Th1 モデル)



肺組織 AB-PAS x100 (Th2 モデル)

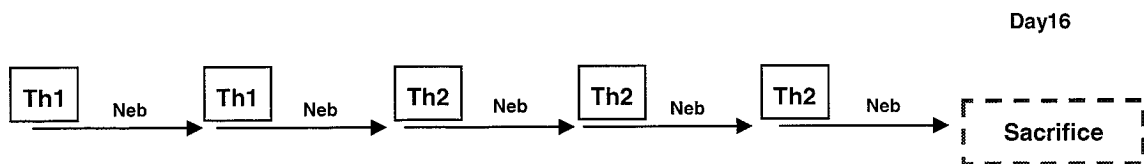


3) Th1 リンパ球を受身移入した後 10 日間 OVA 吸入。その後 Th1 もしくは Th2 リンパ球を受身移入し 10 日間 OVA 吸入。21 日目に sacrifice。BALF 細胞分析・組織の検討・ハイドロキシプロリンの定量を行った。

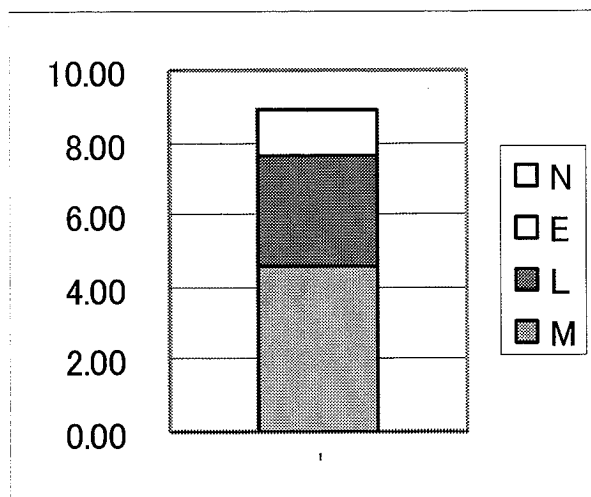


しかし、Th1 リンパ球・Th2 リンパ球を 10 日間隔で受身移入したマウスでは BALF 中リンパ球の増加を認めた。組織像は特筆すべき所見を認めなかった。ハイドロキシプロリンの増加は認められず、Th1 リンパ球に引き続き Th1 リンパ球を受身移入したモデルマウスと、Th2 リンパ球を受身移入したモデルマウスとでハイドロキシプロリン量に差を認めなかった。

4) Th1 リンパ球を受身移入した後 3 日間抗原暴露。これを計 3 回繰り返した後 Th2 リンパ球を受身移入した後 3 日間抗原暴露を 2 回繰り返した。



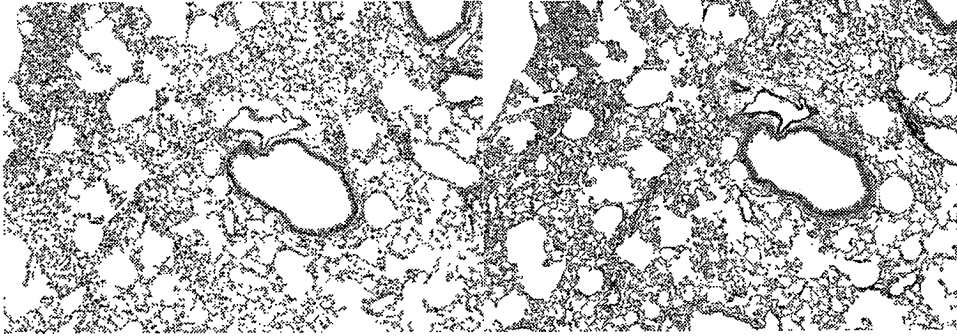
Th1・Th2 リンパ球を 3 日間隔で受身移入し 16 日後に sacrifice したマウスでは BALF 中好酸球・リンパ球増加認めた。組織像では HE 染色で alveolitis の所見であり、EM 染色では肺胞領域の線維化の所見を認めた。





肺組織 HE x40

肺組織 EM x40



【考察】今回の④の結果から、Th1 リンパ球の受身移入に引き続き Th2 リンパ球の受身移入を施行することで、肺泡領域の線維化をきたす可能性が示された。今回の検討のみでは不十分であり、今後更に研究を進め、Th2 細胞が肺の線維化に果たしている役割を明らかにする方針である。

## 2. In vitro における線維芽細胞からのコラーゲン産生の制御

本研究については別添えの論文とした (Shoda H, Yokoyama A, Nishino R, Nakashima T, Ishikawa N, Haruta Y, Hattori N, Naka T, Kohno N. Overproduction of collagen and diminished socs1 expression are causally linked in fibroblasts from idiopathic pulmonary fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;353:1004-1010)

Abstract を以下に示すが、本研究により、IPF 由来の線維芽細胞では健常者由来のものに比較して、SOCS-1 の発現が低下していることが明らかとなった。すでに知られているように、前者ではコラーゲンの産生が亢進しており、SOCS-1 の発現とコラーゲンの産生との因果関係は、以下の事項から明らかにすることができた。1) SOCS-1 欠損マウスから得られた線維芽細胞はコラーゲン産生が増加している。2) この線維芽細胞に SOCS-1 を導入すると、コラーゲン産生が低下する。また、野生型由来線維芽細胞に SOCS-1 が過剰発現されるとコラーゲン産生が低下する。

さらに、IPF 由来の線維芽細胞では SOCS-1 の構成的な発現低下があるが、IFN- $\gamma$  の投与により、野生型と同程度の SOCS-1 の発現が認められた。すなわち、IPF 由来線維芽細胞は、IFN- $\gamma$  に対する SOCS-1 誘導能が健常者由来線維芽細胞よりも高く、また、コラーゲン産生の抑制能も有意に IPF 由来線維芽細胞で高く、IFN- $\gamma$  に対する感受性が増大していた。これらの点は、従来知られていない情報である。以上のことから、IPF に対する IFN- $\gamma$  療法は、少なくともコラーゲン産生という観点では有効であることが明らかになった。

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive and often fatal pulmonary disorder, and its pathology is characterized by parenchymal fibrosis. To investigate the characteristics of fibroblasts in IPF, we obtained 8 fibroblast cell lines from lungs with

IPF and 8 lines from normal lungs. We found that the fibroblasts from IPF spontaneously produced higher amounts of type I collagen and had lower expression levels of SOCS1 than fibroblasts from normal lung. By using mouse fibroblasts, we demonstrated the causal relationship between them: the deficiency of SOCS1 in fibroblasts resulted in increased collagen production, whereas overexpression of SOCS1 suppressed collagen production. IFN- $\gamma$  suppressed spontaneous collagen production even in SOCS1-deficient fibroblasts, indicating that IFN- $\gamma$  inhibition is SOCS1-independent. In contrast, IFN- $\gamma$  suppressed the increase of collagen production induced by IL-4 in wild type fibroblasts but not SOCS1-deficient fibroblasts, suggesting IFN- $\gamma$  acted exclusively via SOCS1 in this case. Following IFN- $\gamma$  stimulation, the amount of SOCS1 mRNA expressed by IPF fibroblasts was comparable to that of normal fibroblasts. Thus, the extent of SOCS1 increase after stimulation by IFN- $\gamma$  was significantly higher in IPF fibroblasts. The extent to which IFN- $\gamma$  inhibited collagen production was also larger in IPF fibroblasts than in normal fibroblasts. These results suggest that the exaggerated production of collagen observed in fibroblasts from IPF is causally related to the diminished expression of SOCS1, and IPF fibroblasts are more susceptible to IFN- $\gamma$  because of decreased expression of SOCS1.

### 3. **Suppressor of cytokine signaling-1** はブレオマイシン肺傷害を減弱させる

#### 【はじめに】

肺線維症は様々な未知あるいは既知の原因により引き起こされ、低酸素血症と肺機能低下を特徴とする疾患である。肺線維症をきたすもっとも典型的な疾患は特発性肺線維症 (IPF) であるが、進行性の拘束性障害を示し有効な治療法がなく、その予後は著しく不良である。IPF の病態には様々なサイトカイン、ケモカインが関与するが、現在のところ上記のように、IPF は2型ヘルパーT細胞 (Th) 優位の疾患であるとされる。

ブレオマイシン誘導性肺傷害モデルは、その生化学的あるいは機能的特徴がヒトの肺線維症とよく類似しており、それゆえ肺線維症の病態に関与する分子の意義を解明するのに大変有用であるため頻用されている。ブレオマイシン誘導性肺傷害モデルにおいても、ヒトに見られる IPF と同様に Th2 サイトカイン優位な病態が観察され、その制御により病態の改善が認められるという多くの報告がある。

Suppressor of cytokine signaling (SOCS) は、サイトカインシグナル伝達を抑制する分子群として発見され、現在までに Cytokine-inducible SH2-containing protein (CIS) および SOCS-1 から7 の8種類が知られている。SOCS は様々なサイトカインにより誘導され、JAK-STAT 系のリン酸化を抑制

することで細胞内のサイトカインシグナルを抑制する, サイトカインの負の調節因子である。さらに, Th1, Th2 細胞への分化を調節するなどの機能を有すると考えられている。

上記の2の研究では、これら SOCS の機能からは Th2 優位疾患である IPF の病態に関与している可能性が示唆されるため, *in vitro* の検討をおこなった。結果としてヒト IPF 由来の線維芽細胞では健常者に比し, SOCS-1 の発現が低下していることが明らかとなった。また SOCS-1 欠損マウスから得られた線維芽細胞ではコラーゲン産生低下が示された。これらの知見から, SOCS-1 減弱による線維化悪化, SOCS-1 亢進による線維化軽減が予想され, *in vivo* で検討した報告はないため, 本研究をおこなった。

## 【方法】

### 1. 実験動物およびブレオマイシン誘導性肺傷害モデル作成

Day0 に体重測定のものち 6 週齢雌 C57BL/6J マウスを麻酔下に気管を露出し, ブレオマイシン (1.5mg/kg)の気管内投与を行った。SOCS-1 発現低下の効果を検討するために, SOCS-1 ノックアウトマウスは致死性であるため, SOCS-1 ヘテロ欠損マウスを使用した(HEBLM, 大阪大学仲博士より供与)。対照群としては同腹の野生型の兄弟を使用した(WTBLM)。コントロールには同量の生理食塩水を気管内投与した(HENC および WTNC)。SOCS-1 発現増強の効果を検討するために, Day-2 に SOCS-1 遺伝子をコードしたアデノウイルスベクター (Ad-SOCS1) $10^8$  PFU/body を点鼻投与したのち, 上述した方法で Day0 にブレオマイシンの気管内投与を行った。コントロールには LacZ をコードしたアデノウイルスベクター (Ad-LacZ)を投与した。Day7 および Day14 に体重測定のものち屠殺した。

### 2. 気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage ; BAL)

エーテル麻酔下にマウスを屠殺したものち, 気管を露出し 20G カニューレを挿入し, 0.5 ml の PBS で3回 BAL を行った。得られた BALF は 400 x g で 5 分間, 遠心したものち上清は-80°C で保存した。細胞成分は 1ml の PBS で再懸濁したものち血球計算板をもちいて総細胞数を計測した。また サイトスピン (Shandon, Pennsylvania, PA, USA) を用いてスライドを作成し, Diffquick 染色にて固定染色し細胞分画を計測した。

### 3. Real time PCR

SOCS-1 の発現を解析するため, ブレオマイシン投与前 (Day0), および投与後 (Day3, 5, 7, 14)にワイルドタイプ C57BL/6 マウス (WT)を屠殺し, PBS 5 ml にて肺を還流した。左主気管支を結紮した後, 左肺を切離し RNA later に浸透し, -80°C に保存した。RNeasy kit, RNase free DNase kit (Qiagen) を用いて total RNA を抽出し, random primer を用いて逆転写反応を行い cDNA とし, -80°C で保存した。得られた cDNA は SOCS-1 および 18s に対する特異的プライマー, プローブ, を用いて ABI Prism 7900 sequence detector (Applied Biosystems)上で real time PCR を行った。

### 4. ハイドロキシプロリン測定

肺の線維化評価のため, Day14 にマウスを屠殺後, 速やかに両肺を切除し, 既報の方法に従ってハイドロキシプロリンを測定した。

## 5. 統計解析

データはすべて平均値±標準偏差で示した。2群比較には Mann-Whitney の U テスト, 多群間比較には Kruskal-Wallis テストを用いた。

### 【結果】

1. プレオマイシン投与前後における時間経過ごとの SOCS-1 mRNA 発現を検討すると、プレオマイシン投与 1 日後より速やかに誘導され、Day7 まで有意に上昇していた。
2. SOCS-1 発現低下による影響を確認するため HE および WT のプレオマイシン肺傷害モデルを比較した実験では、体重に有意な差はみられなかったが、BALF 中の炎症細胞浸潤は明らかに変化を示した。すなわち、HEBLM では Day7 における BAL 中総細胞数、マクロファージ、リンパ球、好酸球の有意な増加が認められ、好酸球は Day14 においても有意な増加が認められた。
3. Day14 に評価した全肺より得られたヒドロキシプロリン量は WTBLM に比較して HEBLM で有意に上昇しており、SOCS-1 発現低下によるプレオマイシン誘導性の線維化の増強が示された。
4. SOCS-1 発現亢進による影響を確認するため、Ad-SOCS1 または Ad-LacZ を導入した実験系で同様の検討を行うと、体重に有意な差はみられなかったが、BALF 中細胞分析では対照である Ad-LacZ 群と比較し、リンパ球に有意な減少が観察された。
5. また全肺のヒドロキシプロリン量は Ad-LacZ 群に比較して Ad-SOCS1 群で優位に減少しており、SOCS-1 発現亢進によるプレオマイシン誘導性の線維化の軽減が示された。

以上から、SOCS-1 による肺線維症治療の可能性が示唆された。現在、引き続き詳細な検討を行っている。

以下に本研究に関連した総説と、本研究費により補助された研究論文を添付する。