

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	塩谷 咲千子
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Plasminogen activator inhibitor-1 serves an important role in radiation-induced pulmonary fibrosis (Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は放射線肺線維症の進展に重要な役割を果たしている)			
論文審査担当者			
主 査	教授	永田 靖	印
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	准教授	宮田 義浩	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>肺癌などの胸部悪性腫瘍において、放射線治療は重要な役割を担っている。放射線治療の照射線量が大きいほど、抗腫瘍効果は強くなるが、放射線による正常組織の傷害が増加する。放射線治療の合併症として照射後 1～3 ヶ月で発症する放射線肺臓炎と、3～6 ヶ月以降に始まる放射線肺線維症が知られており、時に重篤となり致命的な経過を取りうる。よって、これらの合併症は放射線治療を行う上での照射線量を制限する要因となっている。放射線肺臓炎を経て生じる放射線肺線維症は、病理学的に肺胞隔壁への炎症細胞浸潤、線維芽細胞増生、collagen などの extracellular matrix (ECM) の過剰沈着を特徴とすることが知られている。放射線肺線維症の発症には多くの細胞やメディエーターが複雑に関与しており、これまでに、様々な視点で研究が行われてきたにも関わらず、放射線肺線維症の治療、予防という点で臨床的に有用な薬剤が存在しないのが現状であり、その対処法を開発することが課題となっている。</p> <p>肺を含む様々な臓器の線維化において、plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)による線溶系の抑制が関与していることが報告されている。実際、PAI-1 は plasminogen activator (PA) の抑制を介して plasmin 産生を抑制し fibrin の異常沈着を誘導するとともに、plasmin に依存する matrix metalloproteinase(MMP)活性を抑制して、ECM の異常沈着をもたらすことで、組織の線維化を促進させる。実際に、PAI-1 ノックアウトマウスにおいて、また PAI-1 siRNA を用いた PAI-1 のノックダウンにより、ブレオマイシンの経気管投与により作製された肺線維症の程度が抑制されることも報告されている。</p> <p>放射線による臓器の線維化に PAI-1 が関与することについても動物実験で明らかにされつつある。放射線照射により線維化をきたしたマウスの腸管やラットの腎臓では、PAI-1 の発現が亢進していることが報告されており、放射線による臓器の線維化にも PAI-1 が重要な役割を担っていることが示唆されている。</p>			

そこで著者らは放射線肺線維症の発症への PAI-1 の直接的な関与の有無を調べるために、野生型マウスと PAI-1 ノックアウトマウスを用いた放射線肺線維症モデルマウスを製作し、両者の肺の線維化の程度を比較検討した。

以下に実験の方法と結果を示す。まず、C57BL/6 野生型マウスと PAI-1 ノックアウトマウスの胸部に X 線照射 (15Gy、単回照射) を行うことで、放射線肺線維症を誘発した。放射線照射後 24 週の PAI-1 ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較し、肺病理組織で明らかに肺の線維化が抑制されており、肺の線維化の程度を反映するハイドロキシプロリン量も統計学的有意に低値であった。この結果から、PAI-1 は放射線肺線維症の進展に関与することが示された。

続いて、野生型マウスと PAI-1 ノックアウトマウスの両群で肺の炎症の程度に差があるかを検討するため、気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid; BALF) 中の総細胞数、細胞分画の経時的な解析を行った。BALF 中の炎症細胞数は、野生型マウスでは照射後後期 (18 週以降) から増加したが、PAI-1 ノックアウトマウスではその増加が抑制されていた。この結果から、放射線肺線維症は、放射線照射後後期にみられる肺の炎症に引き続いて発症し、この照射後後期の炎症が抑えられることで肺の線維化を抑制される可能性が示唆された。

次に、放射線照射による肺の線維化形成において中心的な役割を果たしている transforming growth factor- β (TGF- β) と PAI-1 との関係を検討するため、BALF 上清中の PAI-1 と TGF- β 濃度を経時的に測定した。野生型マウスでは、PAI-1 濃度は放射線照射後 18 週以降に上昇し始め、24 週後はベースラインと比較して有意な高値となり、放射線照射が肺内の PAI-1 発現を亢進させることが示された。一方で TGF- β 濃度は、野生型マウスでは、PAI-1 と同様の経時的な上昇を示したのに対して、PAI-1 ノックアウトマウスでは、その上昇が認められず、放射線照射後 24 週の時点では、野生型マウスと比較し統計学的有意に低値であった。線維化をきたす種々の病態において TGF- β が PAI-1 発現を誘導することが知られているが、放射線肺線維症の形成過程においても、TGF- β と PAI-1 発現が連動していることが示された。一方で、PAI-1 ノックアウトマウスでは TGF- β の発現が低下することから、PAI-1 の多寡が TGF- β 発現を制御している可能性も示唆された。

これらの結果から、放射線照射から 18 週目以降に PAI-1 の発現が抑制されると、放射線肺線維症の進展も抑制されることが確認された。一方で、放射線照射後早期には、野生型マウスに比して、PAI-1 ノックアウトマウスにおいて肺組織内の炎症が増強されていることを確認した。PAI-1 発現の欠損が放射線肺臓炎を増強させる機序についてはさらなる検討が必要であるが、放射線照射後早期には PAI-1 の抑制が放射線肺線維症の進展に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文は PAI-1 が放射線肺線維症の進展に強く関与していることを明らかにした点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	塩谷 咲千子
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Plasminogen activator inhibitor-1 serves an important role in radiation-induced pulmonary fibrosis (Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は放射線肺線維症の進展に重要な役割を果たしている)			
最終試験担当者			
主査	教授	永田 靖	印
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	准教授	宮田 義浩	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 30 年 11 月 1 日の第 76 回広島大学研究科発表会（医学）及び平成 30 年 11 月 7 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 放射線肺線維症が放射線照射後にある程度の時間を経過してから発症する機序について 2 放射線肺線維症マウスモデルにおける PAI-1 の産生細胞について 3 PAI-1 ノックアウトマウスの表現型について 4 野生型マウスと PAI-1 ノックアウトマウスで起きている炎症の違いについて 5 PAI-1 以外の肺の線維化に関与している機構について 6 本研究成果を臨床応用する可能性とその際に発生する問題点について 7 今後の研究への発展性について <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			