

論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 石井 太郎
論文題目	TRPV2 channel inhibitors attenuate fibroblast differentiation and contraction mediated by keratinocyte-derived TGF- β 1 in an in vitro wound healing model of rats

(論文内容の要旨)

口唇口蓋裂患者では、口蓋形成手術後の癒痕収縮が上顎骨の成長発育に抑制的に働くことが知られている。創傷治癒時の癒痕収縮における細胞の動態を追跡するために、ラット真皮由来線維芽細胞をコラーゲンゲル中に包埋し、表皮より単離したケラチノサイトをゲル上に播種して三次元培養モデルを作成し、TGF- β シグナリングとTRPチャンネルの関連性について検討してきた。本研究は、癒痕収縮におけるTRPV2チャンネルの上皮と線維芽細胞における役割を明らかにすることを目的とした。

TRPV2阻害薬の処置により、ゲルの収縮が用量依存的に抑制されたことから、コラーゲンゲルの収縮にTRPV2の関与が示された。線維芽細胞における α -SMAのmRNA量はTRPV2阻害薬によって用量依存的に減少した。ケラチノサイトを播種していない条件下で、TGF- β 1処置によるゲルの収縮がTRPV2阻害薬によって抑制されたことから、線維芽細胞に発現したTRPV2がTGF- β 1によるゲルの収縮に寄与することが明らかになった。TRPV2阻害薬の処置でケラチノサイトから放出されるTGF- β 1の放出量が減少した。三次元培養モデルにおいて、線維芽細胞ではTRPV2ならびに α -SMAのmRNAとタンパクが発現し、ケラチノサイトではTRPV2のみのmRNAとタンパクが発現が認められた。TGF- β 1で前処置した線維芽細胞において、TRPV活性化薬2-APBによって細胞内Ca²⁺濃度が増加し、その効果はTRPV2阻害薬で抑制された。TRPV2をノックダウンした線維芽細胞において、2-APBによる細胞内Ca²⁺濃度増加の抑制と α -SMAのmRNA量の減少が認められた。また2日齢ラットの背部皮膚に創傷を作成し、4日後に創部のサンプリングを行い免疫蛍光染色を行ったところ、上皮遊走時の上皮舌にTRPV2の発現を認め、結合組織層の肉芽組織にTRPV2ならびに α -SMAの発現を認めた。

以上より、創傷治癒モデルの収縮に線維芽細胞およびケラチノサイトに発現するTRPV2チャンネルが関与すること、また、TRPV2阻害薬が癒痕収縮を抑制する可能性が示唆された。