

論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 秦 省 三 郎
論文題目	Proteolytic and non-proteolytic activation of keratinocyte-derived latent TGF- β 1 induces fibroblast differentiation in a wound-healing model using rat skin

創傷治癒過程において TGF- β 1 は線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を促進して瘢痕形成に関与すると報告されている。本研究では、潜在型 TGF- β 1 の活性化機序とその制御に関連するケラチノサイト(KC)と線維芽細胞の相互作用を解明することを目的とした。

ラット背部皮膚由来の線維芽細胞と KC から三次元培養系を作成した。また、KC と線維芽細胞の相互作用をより詳しく検討するために、線維芽細胞のみの単層培養系と KC のみの三次元培養系を作成してバイオアッセイを行った。

三次元培養系では、①線維芽細胞における α -平滑筋アクチン (α -SMA ;筋線維芽細胞マーカー) 発現は KC 依存的に上昇し、TGF- β タイプ I 受容体阻害薬により抑制された。② KC の有棘層・顆粒層に TGF- β 1 局在を認め、培養液中に KC 依存的な潜在型 TGF- β 1 分泌が検出された。③ α v-integrin 中和抗体や matrix metalloproteinase (MMP) 阻害薬の GM6001 (GM) により α -SMA 発現が減少した。以上から、 α v-integrin や MMP により潜在型 TGF- β 1 が活性化されることが示唆された。他方、線維芽細胞のみの単層培養系では、①外来性に活性型または潜在型 TGF- β 1 を投与すると、 α -SMA 発現が増加し、潜在型の作用のみが α v-integrin 中和抗体や GM により抑制された。② KC のみの三次元培養で得た培養上清中に TGF- β 1 の分泌を認めたが、GM 存在下では減少した。③培養上清を単層線維芽細胞に与えると α -SMA 発現が上昇したが、この上昇は α v-integrin 中和抗体や GM により抑制された。また、抗 LAP 抗体で潜在型 TGF- β 1 を吸収した後の上清では、 α -SMA 発現は変化しなかった。④ siRNA によって線維芽細胞の TGF- β 1 発現を抑制すると、 α -SMA の発現 (内在性と TGF- β 1 誘発性) が低下した。以上から、KC から MMP を介して放出された潜在型 TGF- β 1 が、線維芽細胞における α v-integrin や MMP により活性化されることが示唆された。MMP 阻害薬は、潜在型 TGF- β 1 活性化プロセスにおいて、KC からの放出と線維芽細胞での活性化を阻害することで筋線維芽細胞への分化を効果的に抑制できたと考えられた。本研究の結果から、TGF- β 1 活性化阻害は瘢痕形成を抑制する治療法となる可能性があると考えられた。