

Title	A blocking peptide for transforming growth factor- $\beta$ 1 activation prevents hepatic fibrosis in vivo
Author(s)	近藤, 宏樹
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45318">https://hdl.handle.net/11094/45318</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	近藤 宏樹
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 18265 号
学位授与年月日	平成 16 年 1 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	A blocking peptide for transforming growth factor- $\beta$ 1 activation prevents hepatic fibrosis in vivo (TGF- $\beta$ 1 活性化抑制ペプチドは、生体において肝線維化を抑制する。)
論文審査委員	(主査) 教授 大菌 恵一 (副査) 教授 林 紀夫 教授 門田 守人

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

Transforming growth factor  $\beta$  1 (TGF- $\beta$ 1) は、組織の線維化病態における中心的なサイトカインであり、細胞外に潜在型として分泌され活性化されて初めて受容体に結合し得る。Thrombospondin-1 は、TGF- $\beta$ 1 の主要な活性化因子であり、latency-associated peptide に由来するペプチド Leu-Ser-Lys-Leu (LSKL) は、TGF- $\beta$ 1 の活性化を抑制する。本研究では、ジメチルニトロサミン (DMN) 投与肝線維化ラットにおける肝細胞障害と線維化に対する LSKL ペプチドの効果を検証した。

#### 〔方法〕

生後 4 週齢の SD ラットに DMN 10 mg/kg を週 3 回、4 週間腹腔内投与するとともに、LSKL または対照ペプチド 100  $\mu$ g、生食 0.5 ml を連日腹腔内投与した。また、各ペプチドまたは生食のみを投与した群を加え 6 群にて比較検討した。

#### 〔成績〕

DMN 投与による肝萎縮は、LSKL 投与により有意に抑制された。肝組織における肝細胞変性および線維化の組織学的スコアは DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有意に低下した。線維化を定量的に評価するため肝組織中ヒドロキシプロリン含有量の測定と I 型コラーゲン  $\alpha$ 2 鎖 mRNA の定量 PCR を行った。肝組織中ヒドロキシプロリン含有量は DMN 投与対照群で高値を示し、LSKL 投与で有意に低下した。I 型コラーゲンの定量 PCR でもほぼ同様の結果が得られた。線維化マーカーである血清中ヒアルロン酸値の上昇も LSKL 投与で有意に抑制された。また、DMN 投与対照群で見られた血清中の総ビリルビン値の上昇は、DMN+LSKL 群で有意に低下し、肝不全の指標となる血清アルブミン値の減少は、DMN 投与対照群より DMN+LSKL 群で有意に改善していた。

次に LSKL ペプチドの効果のメカニズムを調べるために、肝組織中の活性化及び総 TGF- $\beta$ 1 の量を測定した。DMN 投与により総 TGF- $\beta$ 1 の量は増加するが、活性化 TGF- $\beta$ 1 の量は、DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有

意に低下し、活性化 TGF- $\beta$ 1/総 TGF- $\beta$ 1 の割合も抑制された。さらに LSKL ペプチドが実際に TGF- $\beta$ 1 のシグナル伝達分子である Smad 2 のリン酸化を抑制しているか調べるために、肝組織のホモジネート中の Smad 2 を抗 Smad 2 抗体を用いて免疫沈降し、そのサンプルに対し抗リン酸化 Smad 2 抗体および抗 Smad 2 抗体を用いて Western blotting を施行した。Smad 2 のリン酸化は、DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有意に減少した。

〔総括〕

LSKL ペプチドは、TGF- $\beta$ 1 の活性化を抑制し、その結果シグナル伝達を抑制して肝細胞障害や線維化の伸展を抑制した。これにより LSKL ペプチドが肝線維化病態の治療に有効である可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

Thrombospondin-1 は、TGF- $\beta$ 1 の主要な活性化因子であり、latency-associated peptide に由来するペプチド Leu-Ser-Lys-Leu (LSKL) は、TGF- $\beta$ 1 の活性化を抑制する。本研究では、ジメチルニトロサミン (DMN) 投与肝線維化ラットにおける肝細胞障害と線維化に対する LSKL ペプチドの効果を検証した。DMN 投与による肝萎縮、肝組織における肝細胞変性および線維化のスコアは DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有意に改善し、肝組織中ヒドロキシプロリン含有量の上昇も LSKL 投与で有意に抑制した。肝組織中の活性化 TGF- $\beta$ 1 の量は、DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有意に低下し、活性化 TGF- $\beta$ 1/総 TGF- $\beta$ 1 の割合も抑制された。TGF- $\beta$ 1 のシグナル伝達分子である Smad 2 のリン酸化の程度も DMN 投与対照群に比べ DMN+LSKL 群で有意に減少した。LSKL ペプチドは、TGF- $\beta$ 1 の活性化を抑制して肝細胞障害や線維化の伸展を抑制した。これにより LSKL ペプチドが肝線維化病態の治療に有効である可能性が示唆され、博士 (医学) の学位授与に値すると考えられた。