



Title	Anti-fibrotic effects of theophylline on lung fibroblasts
Author(s)	矢野, 幸洋
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46305
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	矢野幸洋
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20106 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Anti-fibrotic effects of theophylline on lung fibroblasts (肺線維芽細胞におけるテオフィリンの抗線維化作用の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 林 紀夫 教授 金倉 譲

論文内容の要旨

【目的】

50 年以上にわたりテオフィリンは気管支喘息及び COPD に対する治療薬として用いられてきた。その代表的作用には気管支拡張作用があり phosphodiesterase 阻害作用とその結果としての細胞内 cAMP 濃度の上昇によりもたらされると考えられている。

喘息及び COPD は気道の慢性炎症であり長期罹患した患者では器質的肥厚など気道壁構造の改変が認められる。この状態は気道リモデリングと呼ばれ難治化の主因の一つと考えられる。リモデリングでは線維芽細胞、細胞外マトリックス (ECM) などに変化を認めるがこのうち気道線維化は最も重要な特徴の一つと考えられる。type I collagen は最も代表的な ECM の一つであり、また α -SMA 蛋白は myofibroblast の分化マーカーで線維芽細胞活性化の指標と考えられる。TGF- β は ECM や α -SMA の発現を誘導する重要な因子であり喘息及び COPD 患者において気道線維化の程度と TGF- β の発現が相関することが報告されている。

テオフィリンは histone deacetylase の活性化などを通じた抗炎症作用を持つことが最近報告されているがこのような抗炎症作用を介することなく直接に気道線維化に対して抗線維化作用を持つか否かは十分に評価されていない。そこで本研究では肺線維芽細胞に対するテオフィリンの抗線維化作用について検討を行い更にそのメカニズムについても解析を行った。

【方法】

2 種類のヒト肺線維芽細胞 (NHLF 及び WI-38) において TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現に対するテオフィリンの影響を real time PCR 法にて検討した。この影響は TGF- β 刺激前 2 時間にテオフィリンを投与し投与後 24 時間の時点で RNA を回収することで検討した (テオフィリン前投与)。次に NHLF 細胞において FBS 刺激による細胞増殖に対するテオフィリンの影響を cell counting kit-8 で、また TGF- β により誘導される α -SMA 蛋白の発現に対するテオフィリンの影響を western blott 法にて検討した。次に TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現に対する cAMP アナログ (db-cAMP) の影響を real time PCR 法にて検討した。更に type I collagen の mRNA 発現に対するテオフィリンの効果への PKA 阻害剤 (Rp-cAMP) の影響を検討するためテオフィリン前投与の 30 分前に Rp-cAMP の投与を行い real time PCR 法にて検討した。ステロイドとの併用効果を検討す

るため TGF- β 刺激の 2 時間前にテオフィリン及び dexamethasone の投与を行い real time PCR 法にて検討した。最後に、テオフィリン前投与ではなく TGF- β 刺激後 6 時間でテオフィリン後投与を行い type I collagen の mRNA 発現に対する影響を real time PCR 法にて検討した。

[結果]

NHLF 及び WI-38 細胞の両者において TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現はテオフィリン前投与で抑制された。また NHLF 細胞において FBS 刺激による細胞増殖及び TGF- β により誘導される α -SMA 蛋白の発現は共にテオフィリンによって抑制された。NHLF 細胞において type I collagen の mRNA 発現はテオフィリンの後投与でも抑制された。db-cAMP も同様に TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現を抑制した。またテオフィリンによる type I collagen の mRNA 発現抑制効果は Rp-cAMP の前投与で減弱した。dexamethasone とテオフィリンの同時投与では dexamethasone 単独投与に比べ type I collagen の mRNA 発現は相加的に抑制された。

[総括]

本研究の結果より肺線維芽細胞の細胞増殖、活性化及び ECM 産生のいずれもテオフィリンにより抑制されること明らかとなった。これらはリモデリングの特徴の一つである気道線維化の指標であり、本研究の結果はテオフィリンが気道リモデリング抑制作用を持つ可能性を示唆すると考えられる。更にこのテオフィリンの抑制作用は cAMP アナログでも同様に認められ PKA 阻害剤の前投与で減弱することから、少なくともその一部は cAMP-PKA カスケードを介していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

50 年以上にわたりテオフィリンは気管支喘息及び慢性閉塞性肺疾患に対する治療薬として用いられてきた。その作用としては気管支拡張作用のみならず抗炎症作用なども報告されている。しかしながらテオフィリンが気道の線維化に対して抗炎症作用を介さない直接の抗線維化作用を持っているか否かはこれまでに十分に評価されていない。そこで今回、論文著者らによってテオフィリンの肺線維芽細胞に対する抗線維化作用の有無及びそのメカニズムについて検討が行われた。その結果テオフィリンは肺線維芽細胞において cAMP-PKA カスケードを介した抗線維化作用を持つ可能性が明らかとなった。この研究結果は従来より報告されている気管支拡張作用、抗炎症作用などとは異なった抗線維化作用という別の作用をテオフィリンが持つ可能性を示した報告であり学位の授与に値すると考えられる。