

Title	IL-10 Inhibits Transforming Growth Factor- β -Induction of Type I Collagen mRNA Expression via Both JNK and p38 Pathways in Human Lung Fibroblasts.
Author(s)	井上, 幸治
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46312
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	井上 幸治
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20100 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	IL-10 Inhibits Transforming Growth Factor- β -Induction of Type I Collagen mRNA Expression via Both JNK and p38 Pathways in Human Lung Fibroblasts. (IL-10 は肺線維芽細胞において Transforming Growth Factor- β で惹起される I 型コラーゲンの mRNA 発現を JNK と p38 を介して抑制する。)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 林 紀夫 教授 青笹 克之

論文内容の要旨

[目的]

Transforming Growth Factor- β (TGF- β) は特発性肺線維症のような線維化をきたす疾患の病因を理解する上で重要な因子である。我々は TGF- β をラット肺に強発現することで過剰な細胞外マトリックスの蓄積を特徴とした肺線維症を報告した (Yoshida, PNAS, 1995)。I 型コラーゲンは細胞外マトリックスの主要な構造蛋白で線維芽細胞をはじめ様々な細胞で作られる。TGF- β は線維芽細胞における I 型コラーゲン産生を促進するが、その細胞内分子制御機構は十分に理解されていない。

一般に TGF- β が II 型 TGF- β レセプターに結合すると、I 型 TGF- β レセプターと複合体を形成し、細胞内転写因子である Smad2 をリン酸化する。リン酸化された Smad2 は Smad4 と連携して核内に入り、そこで転写応答を担う。一方 TGF- β シグナルの細胞内アンタゴニストである Smad7 は TGF- β による Smad2 のリン酸化を直接的に抑制する。

近年、古典的な Smad 経路に加えて mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路も TGF- β シグナルを担うことが報告されている。3 つの主要な MAPK は extracellular signal-regulated kinase (ERK)、c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) 並びに p38 である。

我々は interleukin-10 (IL-10) が肺線維芽細胞株 (WI-38 細胞) において TGF- β で惹起される I 型コラーゲンの mRNA 発現を抑制することを報告した (Arai, AJP, 2000)。しかしその抑制メカニズムは十分に検討されていない。そこで今回我々はこの系における IL-10 の TGF- β シグナル抑制機序を Smad 経路並びに MAPK 経路の両者で検討した。

[方法ならびに成績]

まず reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で、WI-38 細胞において TGF- β が 24 時間後に惹起する I 型コラーゲンの mRNA 発現を IL-10 が抑制することを確認した。同細胞においてリン酸化 Smad2 特異的抗体を用いたイムノプロット法で、TGF- β が刺激 30 分後をピークに Smad2 をリン酸化することを確認した。

しかし、IL-10はSmad2のリン酸化を抑制しなかった。また、IL-10はTGF- β 刺激24時間後に促進されるSmad7のmRNA発現に影響を及ぼさなかった。以上より、IL-10はWI-38細胞においてTGF- β により伝搬されるSmad経路の抑制に関与していないことが判明した。

次に、TGF- β がMAPKであるERK、JNK並びにp38をリン酸化するかどうかイムノプロット法で評価した。WI-38細胞において、TGF- β はERKをリン酸化しなかったが、15分のピークでJNK並びに60分のピークでp38をリン酸化した。さらに、IL-10はこれらのJNK並びにp38のリン酸化を抑制した。

最後に、JNK経路とp38経路のいずれがTGF- β で惹起されるI型コラーゲンの発現に関わるかどうかをRT-PCR法で評価した。JNK阻害剤とp38阻害剤のどちらもがTGF- β で24時間後に惹起されるI型コラーゲンのmRNA発現を抑制した。以上よりIL-10はMAPK経路であるJNKおよびp38を抑制することにより、TGF- β が惹起するI型コラーゲンの産生促進作用を抑制することが示唆された。

[総括]

IL-10はWI-38細胞においてTGF- β で誘導されるSmad2のリン酸化やSmad7のmRNA発現には影響を及ぼさなかったが、MAPK経路の重要な蛋白であるJNKとp38のリン酸化を抑制した。さらにJNK阻害剤とp38阻害剤は共にWI-38細胞においてTGF- β で惹起されるI型コラーゲンのmRNA発現を抑制した。以上より、IL-10はWI-38細胞においてTGF- β が惹起するI型コラーゲンの産生促進作用をJNKとp38を介して抑制することが示唆された。

この抑制機序の解明は、特発性肺線維症のような過剰な線維化で特徴付けられる疾患の治療戦略を考えられる上で新しい知見となる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

TGF- β は特発性肺線維症のような過剰な線維化で特徴付けられる疾患の病因を理解する上で重要な因子である。以前論文著者らは、TGF- β をラット肺に強発現することで過剰な細胞外マトリックスの蓄積を特徴とした肺線維症が生じることを報告した。さらにIL-10が肺線維芽細胞株においてTGF- β で惹起されるI型コラーゲン（細胞外マトリックスの主要な構造蛋白）のmRNA発現を抑制することを報告したが、その抑制メカニズムは十分に検討されていない。そこで今回論文演者らが検討したところ、TGF- β で惹起されるI型コラーゲンのmRNA発現に対して、IL-10はSmad経路に影響を及ぼさずMAP Kinase経路であるJNKとp38を経由して抑制することを解明した。この抑制機序の解明は、特発性肺線維症のような過剰な線維化で特徴付けられる疾患の治療戦略を考えられる上で新しい知見となる可能性があり、学位に値するものと認める。