

Title	Anti-fibrotic Effects of ONO-EF-345, a Specific Phosphodiesterase IV inhibitor, on Lung Fibroblasts
Author(s)	柳田, 誠彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/47554
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	やなぎ だ まさ ひこ 柳 田 誠 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 20939 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 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 ONO-EF-345, a Specific Phosphodiesterase IV inhibitor, on Lung Fibroblasts (選択的ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤が肺の線維芽細胞に対して抗線維化作用を有する)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎 (副査) 教授 杉本 壽 教授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

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。

ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤 (PDE4 阻害剤) は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 PDE4 阻害剤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。

[方法ならびに成績]

2 種類のヒト肺線維芽細胞 (NHLF 及び WI-38) において、PDE4 阻害剤 (ONO-EF-345) の影響を、TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現・ α -SMA 蛋白の発現をそれぞれ、real time PCR 法・western blot 法にて、検討した。検体は real time PCR 法では TGF- β 刺激後 24 時間の時点で RNA を回収することで検討し、western blot 法では TGF- β 刺激後 48 時間の時点で蛋白を回収することで検討した。PDE4 阻害剤を TGF- β 刺激 2 時間前に投与 (PDE4 阻害剤前投与) した場合、また PDE4 阻害剤を TGF- β 刺激 48 時間後に投与 (PDE4 阻害剤後投与) した場合 (この時点で、PDE4 阻害剤と TGF- β を含んだ培地に交換)、ともに PDE4 阻害剤は type I collagen の mRNA 発現・ α -SMA 蛋白の発現を抑制した。

この効果は cAMP アナログ (pCPT-cAMP)、他の PDE4 阻害剤である rolipram でも認められた。

次に、PDE4 阻害剤の作用経路について解析した。

NHLF 細胞においてリン酸化 Smad2 特異的抗体を用いた western blot 法で、TGF- β が Smad2 をリン酸化することを確認した。しかし、PDE4 阻害剤は Smad2 のリン酸化を抑制しなかった。また、PDE4 阻害剤は 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 (real time PCR 法)。以上より、PDE4 阻害剤は TGF- β のシグナル経路として Smad 経路の抑制に関与していないことが判明した。

TGF- β のシグナル経路としては、他に MAPK である JNK、p38 を介した経路が挙げられ、それぞれのリン酸化阻害剤を TGF- β 刺激 30 分前に投与すると、TGF- β により誘導される type I collagen の mRNA 発現・ α -SMA 蛋白の発現が抑制された。

次に PDE4 阻害剤が JNK、p38 のリン酸化を抑制していないかについて検討した。

PDE4 阻害剤を 2 時間前に投与し、TGF- β 刺激をし、JNK、p38 のリン酸化を 15 分、30 分後に、FACE 法 (Fast Activated Cell-based ELISA) で評価した。結果、PDE4 阻害剤は、JNK、p38 のリン酸化を抑制した。

[総括]

本研究の結果より TGF- β で誘導される肺線維芽細胞の活性化及び ECM 産生のいずれも PDE4 阻害剤により抑制されることが明らかとなった。これは TGF- β シグナルの smad 経路でなく、MAPK である JNK、p38 のリン酸化抑制の機序で作用を発揮すると考えられた。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 PDE4 阻害剤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。

論文審査の結果の要旨

ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤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期待されている。その作用としては気管支拡張作用、抗炎症作用が報告されている。しかしながらホスホジエステラーゼ 4 阻害剤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ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤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、ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤は肺線維芽細胞において JNK、p38 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ホスホジエステラーゼ 4 阻害剤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。