



Title	Tumor necrosis factor- α processing inhibitor-1 inhibits skin fibrosis in a bleomycin-induced murine model of scleroderma.
Author(s)	寺尾, 美香
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54133
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【15】

氏 名	寺 尾 美 香
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 3 4 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 21 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Tumor necrosis factor- α processing inhibitor-1 inhibits skin fibrosis in a bleomycin-induced murine model of scleroderma. (TNF- α processing inhibitor-1はプレオマイシン誘導皮膚硬化を抑制した)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 片山 一朗 (副査) 教 授 板見 智 教 授 細川 互

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

皮膚硬化は強皮症患者の QOL を著しく損なう。皮膚硬化の治療として、紫外線療法、副腎皮質ホルモンや免疫抑制剤の投与などの報告があるが、いまだ確立された治療法はない。

以前より血清可溶性 TNF レセプター p55 (sTNFRp55) 値が強皮症患者の重症度と相関することが報告されているが、病態との関与は不明である。今回我々は sTNFRp55 がプレオマイシン (BLM) 誘導皮膚硬化モデルにおいても上昇していることを確認した。TNFRp55 を介したシグナルは線維化を抑制することが知られており、sTNFRp55 上昇に伴う TNFRp55 シグナルの低下が強皮症に関与しているのではないかと考えた。TNFRp55 は TNF α converting enzyme (TACE) により切断され可溶性となる。また、近年強皮症患者において TACE 発現が上昇していることが報告されている。そこで我々は、TACE 阻害薬である TNF α processing inhibitor (TAPI-1) が BLM 誘導皮膚硬化モデルの皮膚硬化を抑制できるかどうか検討した。

[方法ならびに成績]

1 BLM 誘導皮膚硬化モデルと TNFRp55 の関連

BLM(1mg/ml)もしくは PBS (コントロール群) 100 μ l を 6 週齢 C57BL/6 マウスの剃毛した背部に 21 日間皮下注射し皮膚硬化モデルとした。22 日目に血清 sTNFRp55 値を ELISA で測定した。また、硬化皮膚よりタンパクを抽出し、Western Blotting で TACE

発現を検討した。このモデルにおいても強皮症患者と同様に血清 sTNFRp55 が上昇した。硬化皮膚においては、TACE の発現が上昇していた。

2 BLM 誘導皮膚硬化モデルにおける TAPI-1 の効果

次に、このモデルに TAPI-1 (1 μ M) もしくは Vehicle を Day1,8,15 に経口投与した。22 日目に血清を採取し、sTNFR 濃度を測定した。また、硬化皮膚を採取し組織学的な検討と RNA・タンパクの抽出による線維化関連因子の検討を行った。TAPI-1 投与群において、血清 sTNFRp55 値の上昇は有意に抑制されていた。組織学的には真皮の厚さが有意に減少しており、強皮症初期に増加する α SMA 陽性線維芽細胞数も低下していた。I 型コラーゲンや TGF β の mRNA 発現も TAPI-1 投与群で低下しており、TAPI-1 はこのモデルの皮膚硬化を抑制する作用があると考えられた。

3 TAPI-1 の作用点の検討

TACE 阻害薬である TAPI-1 が BLM 誘導皮膚硬化を抑制したことより、TAPI-1 の作用点につき検討した。BLM と PBS (コントロール) 皮下注射マウスの硬化部位での TACE 発現を in-situ-hybridizaion (ISH) と免疫染色 (IHC) で検討した。ISH, IHC ともに TACE は表皮と筋組織で発現しており TAPI-1 は表皮・筋組織での TACE の作用を抑制している可能性が示唆された。さらに詳しく検討するために、マウス Primary Keratinocyte, Fibroblast, Splenocyte と筋芽細胞の Cell Line である C2C12 に *in vitro* で BLM を添加したが、いずれにおいても TACE 発現や上清中の sTNFRp55 の上昇はみられず、BLM 誘導皮膚硬化は単一の細胞ではなく、異なる細胞間の、あるいはの相互作用によって生じるのではないかと考えられた。

[総 括]

TAPI-1 が BLM 誘導性皮膚硬化を有意に抑制したことより、TACE をターゲットとした治療が強皮症患者の皮膚硬化の新たな治療になる可能性が示唆された。皮膚組織では TACE は表皮と筋組織で発現していたが、強皮症の皮膚硬化は真皮下層より始まるため、筋組織で TACE 発現がみられたことは興味深く、今後、強皮症の皮膚硬化との関連を検討する必要がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

強皮症は皮膚や肺など多臓器の線維化をきたす原因不明の疾患であり、皮膚硬化は強皮症患者の QOL を著しく損なう。皮膚硬化の治療として、紫外線療法、副腎皮質ホルモンや免疫抑制剤の投与などの報告があるが、確立された治療法はない。

本研究では抗線維化シグナルである TNFRp55 シグナルをターゲットとした治療法が皮膚硬化の治療になりえないかどうか、プレオマイシン誘導性皮膚硬化モデルを用いること

により研究した。TNF α converting enzyme (TACE)の阻害薬である TNF α processing inhibitor (TAPI-1) は真皮の厚さ, α smooth muscle actin 陽性の筋線維芽細胞の数, TGF β 発現, コラーゲン Type 1 発現を抑制した。

以上の結果は TACE 阻害薬が強皮症の新たな治療法になりうる可能性を示すものであり, 学位に値すると考える。