

| | |
|--------------|---|
| Title | bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblast Migration in Wound Healing |
| Author(s) | 金澤, 成行 |
| Citation | 大阪大学, 2012, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/59013 |
| 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 | かな ざわ しげ ゆき 金 澤 成 行 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医学) |
| 学位記番号 | 第 25127 号 |
| 学位授与年月日 | 平成24年3月22日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻 |
| 学位論文名 | bFGF Regulates PI3-Kinase-Rac1-JNK Pathway and Promotes Fibroblast Migration in Wound Healing (bFGFはPI3-Kinase-Rac1-JNK経路により創傷治癒過程において線維芽細胞遊走を促進する) |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 細川 互 (副査) 教 授 片山 一郎 教 授 片山 泰一 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

創傷治癒の過程において線維芽細胞の増殖・遊走は肉芽形成や創閉鎖に大きな役割を担っている。そして、創傷治癒に不可欠である線維芽細胞の遊走 (migration) にとって、細胞骨格を司るアクチンのダイナミックな構造変化は必須である。細胞が遊走する時には、移動方向への細胞膜の突出、安定した接着の形成、細胞体の収縮と前進、後方の接着解離という複数のステップがおこる。そして、これらのステップにとって重要となるアクチンのリモデリングを行っているのが低分子量G蛋白 (RhoA, Rac1, Cdc42) である。

bFGF (basic fibroblast growth factor) は創傷治癒過程の炎症期に線維芽細胞の増殖を刺激し、創傷治癒を促すことが知られている。しかし、bFGFが皮膚線維芽細胞の遊走に対し、どのような分子生物学的な作用を及ぼすかは未だ不明な点が多い。我々はbFGFが線維芽細胞の遊走に与える影響とアクチンリモデリングを担う低分子量G蛋白との関係の解明、そして、bFGFの線維芽細胞遊走における新たなシグナル伝達経路の発見を目的とし、本研究を行った。

〔 方 法 〕

3日齢ラット背部皮膚より皮膚線維芽細胞を採取し、この培養線維芽細胞を各実験に用いた。最初に、mitomycin-Cを用いて線維芽細胞の増殖を停止させる条件を決定し、全ての実験を同様の条件で行った。

①wound healing assay法 (培養細胞上で仮想的創を作成) により、bFGF投与後の細胞の遊走速度の変化を測定した。

②細胞のmigration時には、細胞膜の突出 (ラメリポディア) がみられる。よって、bFGF刺激による細胞

膜の突出の程度（突出部分の周径／細胞周径）を計測した。

- ③bFGF刺激による低分子量G蛋白（RhoA、Rac1、Cdc42）、PI3-kinase、JNKの活性変化をWestern blottingで調べた。
- ④RhoA、Rac1、PI3-kinase、JNKをそれぞれ阻害し、遊走への影響をwound healing assayで解析した。
- ⑤Rac1、PI3-kinase、JNKについてのbFGF刺激による活性化の相互関係（シグナル伝達経路）をWestern blottingで解析した。

[成績]

- ①bFGF刺激により線維芽細胞の遊走速度が促進した。
- ②細胞膜の突出がbFGF刺激により促進された。
- ③bFGF刺激により、RhoA、Rac1、PI3-kinase、JNKの活性化を認めた。一方、Cdc42の活性はみられなかった。
- ④RhoA阻害では遊走速度に影響はなかったが、Rac1、PI3-kinase、JNKをそれぞれ阻害するとmigrationが有意に阻害された。
- ⑤PI3-kinaseを阻害するとRac1、JNKの活性化が阻害され、Rac1を阻害するとJNKの活性化が阻害された。

以上の結果より、bFGFが細胞膜を突出させ、皮膚線維芽細胞の遊走を促進させることが明らかになった。そして、bFGFが皮膚線維芽細胞のmigrationを促進させるシグナル伝達経路がbFGF→PI3-kinase→Rac1→JNK→migrationであることが示唆された。

[総括]

bFGFは臨床の場で効果も認められ、一般的に使用されるようになった。しかしながら、実際にはbFGFを投与しても依然として難治性を固持し続ける皮膚潰瘍も少なくない。そして、bFGFが皮膚線維芽細胞の遊走能に対し、どのような分子生物学的な作用を及ぼすかは未だ不明な点が多い。本研究で注目した低分子量G蛋白は細胞骨格を制御する重要な蛋白であり、さまざまな細胞の遊走において重要な役割を担うことは既に報告されている。したがって、皮膚線維芽細胞の遊走においても重要な役割を持っていると推測した。

難治性皮膚潰瘍が増加の一途をたどる医療の現状においては、創傷治癒の観点からみたbFGFの作用機序を分子生物学レベルで明らかにすることがより質の高い治療を行うためには重要である。さらに、新規に解明したメカニズムを応用し、bFGFの作用を増強することができれば、難治性皮膚潰瘍に対する治療成績の向上につながる可能性がある。以上より、我々はbFGFが皮膚線維芽細胞の遊走に与える効果と低分子量G蛋白との相互関係（シグナル伝達経路）について研究した。

bFGFは細胞膜を突出させることで、皮膚線維芽細胞の遊走を促進させることがわかった。そして、低分子量G蛋白を中心とした線維芽細胞遊走を促進させるbFGFの未知のシグナル伝達経路を解明した。これらの結果を応用し、発展させることで、bFGFの効果の増強による難治性皮膚潰瘍に対する治療成績の向上やbFGFと作用機序が類似する新たな創傷治癒促進薬の発見につながることもできるかもしれない。したがって、本研究は創傷治癒研究の発展に大いに貢献するものと考えられる。

難治性皮膚潰瘍が増加の一途をたどる医療の現状においては、創傷治癒の観点からみたbFGF（線維芽細胞増殖因子）の作用機序を分子生物学レベルで明らかにすることがより質の高い治療を行うためには重要である。さらに、新規に解明したメカニズムを応用し、bFGFの作用を増強することができれば、難治性皮膚潰瘍に対する治療成績の向上につながる可能性がある。以上より、我々はbFGFが皮膚線維芽細胞の遊走に与える効果と低分子量G蛋白との相互関係（シグナル伝達経路）について研究した。

bFGFは細胞膜を突出させることで、皮膚線維芽細胞の遊走を促進させることがわかった。そして、低分子量G蛋白を中心とした線維芽細胞遊走を促進させるbFGFの未知のシグナル伝達経路を解明した。これらの結果を応用し、発展させることで、bFGFの効果の増強による難治性皮膚潰瘍に対する治療成績の向上やbFGFと作用機序が類似する新たな創傷治癒促進薬の発見につながることもできる可能性を示した。したがって、本研究は創傷治癒研究の発展に大いに貢献するものであり、学位の授与に値すると考えられる。