

Title	Periostin is induced by IL-4/IL-13 in dermal fibroblasts and promotes RhoA/ROCK pathway-mediated TGF- $\beta$ 1 secretion in abnormal scar formation
Author(s)	前田, 大介
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/73529">https://hdl.handle.net/11094/73529</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		前田 大介	
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	久保 信貴
	副 査	大阪大学教授	藤 王 孝
	副 査	大阪大学寄附講座教授	玉井 英人

## 論文審査の結果の要旨

皮膚の創傷治癒過程において、難治性の、ケロイド・肥厚性瘢痕という異常瘢痕を時に発症するが、その形成機構については未だ十分に解明されていない。近年、内臓器官における線維化疾患の研究において、細胞外マトリックス蛋白の一種であるペリオスチンの関与が明らかにされつつあることから、皮膚の線維化疾患とも考えられるケロイド・肥厚性瘢痕形成へのペリオスチンの関与について研究が行われた。その結果、ペリオスチンは、ケロイド・肥厚性瘢痕組織では、正常組織や成熟瘢痕と比し、真皮での沈着と線維芽細胞内での発現が増加していることが明らかにされた。また、皮膚線維芽細胞におけるペリオスチンの産生と分泌は、IL-4/13、TGF- $\beta$ 1によって促進されることが判明した。さらに、分泌されたペリオスチンが皮膚線維芽細胞に作用し、RhoA/ROCK経路を介して、臓器線維化を促進するとされるTGF- $\beta$ 1の分泌を促進することが、初めて証明された。

以上より、本論文はペリオスチンのケロイド・肥厚性瘢痕形成への関与機構を解明し、難治性のケロイド・肥厚性瘢痕の新治療開発の可能性を示したことから、学位に値すると考える。

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	前田 大介
論文題名 Title	Periostin is induced by IL-4/IL-13 in dermal fibroblasts and promotes RhoA/ROCK pathway-mediated TGF- $\beta$ 1 secretion in abnormal scar formation (皮膚の線維芽細胞において、ペリオスチンはIL-4/IL-13の刺激により産生、分泌され、それによりRhoA/ROCK経路を介してTGF- $\beta$ 1の分泌を促進し、異常瘢痕形成に関与する)
論文内容の要旨	
<p>【目的(Purpose)】</p> <p>細胞外マトリックス蛋白の1種であるペリオスチンは主に線維芽細胞から分泌され、組織構築の維持に関与する。一方、臓器によっては、過剰なペリオスチンが組織の線維化に関与することが解明されている。皮膚において、ケロイド・肥厚性瘢痕のような異常瘢痕形成が線維増殖性疾患として考えられるため、ペリオスチンによる関与について検討を行った。</p> <p>【方法ならびに成績(Methods/Results)】</p> <p>手術で採取した検体（正常皮膚、成熟瘢痕、ケロイド、肥厚性瘢痕）を用いて、免疫組織化学染色でペリオスチンの発現の違いを確認したところ、ケロイド・肥厚性瘢痕は正常皮膚、成熟瘢痕に比べて、真皮内でのペリオスチンの発現が明らかに増強していた。次に細胞内でのペリオスチン量について比較を行う際に、ケロイド・肥厚性瘢痕の手術で採取した検体からヒト線維芽細胞の培養を行った。細胞の純度について線維芽細胞のマーカーである抗ビメンチン抗体と抗fibroblast surface protein抗体を用いてフローサイトメトリーと免疫細胞染色で確認すると、それぞれ93%以上と95%以上で陽性であった。それを踏まえて、ウエスタンブロッティングを用いてペリオスチンのタンパク発現について検討したところ、正常皮膚線維芽細胞と比べてケロイド・肥厚性瘢痕由来の皮膚線維芽細胞では有意にペリオスチンの発現が上昇していた。</p> <p>ペリオスチン産生に関与するIL-4/13、TGF-<math>\beta</math>1を、培養した正常皮膚線維芽細胞に投与し、ペリオスチンの産生や分泌についてリアルタイムRT-PCR、ウエスタンブロッティング、ELISAを用いて変化を測定したところ、いずれも有意差をもって上昇していた。次に、細胞内でペリオスチンのRhoA/ROCK経路への影響について、RhoA活性をPull-down assay法により測定したところ、培養液中にペリオスチンを投与することで線維芽細胞内での活性化RhoAが増加していた。また、ELISAを用いて培養液中へのペリオスチン投与により線維芽細胞から分泌されるTGF-<math>\beta</math>1は増加しており、ROCK阻害薬のY27632を同時に投与すると、ペリオスチン単独投与した場合よりもTGF-<math>\beta</math>1の分泌は減少していた。以上から、ペリオスチンにより線維芽細胞内でRhoA/ROCK経路が活性化されて、TGF-<math>\beta</math>1が分泌されることが示された。</p> <p>【総括(Conclusion)】</p> <p>IL-4/13、TGF-<math>\beta</math>1により細胞内でのペリオスチンの産生と分泌が増加し、それが隣接する細胞へ作用することで、その細胞内でのRhoA/ROCK経路が活性化されてTGF-<math>\beta</math>1が分泌されることを示した。増加するTGF-<math>\beta</math>1により、再び線維芽細胞へ作用してペリオスチンが増加するという悪循環が生じ、また線維芽細胞から筋線維芽細胞へと分化を促進することで、ケロイド・肥厚性瘢痕の異常瘢痕形成へ関与することが示唆された。</p>	