

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 堀 田 祐 馬

主論文 1編

Transforming growth factor β 1-induced collagen production in myofibroblasts is mediated by reactive oxygen species derived from NADPH oxidase 4.

Biochemical and Biophysical Research Communications 506: 557-562, 2018

審査結果の要旨

クローン病において、潰瘍の治癒過程で生じる腸管の線維化にともなう狭窄は、臨床的に重要かつ重篤な合併症である。そのため、過剰な腸管線維化の抑制あるいはその治療が望まれているが、腸管における線維化の基礎的な理解は未だに十分ではない。申請者は、活性酸素（reactive oxygen species: ROS）を産生する酵素蛋白質であり、肺や腎の線維化への関与が報告されている NADPH oxidase 4 (NOX4) に着目し、腸管の線維化機構においても NOX4 が主要な役割を果たしている可能性を考えた。既に、筋線維芽細胞に対して TGF- β 刺激を行うことでコラーゲンの産生が増加し、繊維化を促進することが知られている。そこで本研究では、腸管における線維化進展機構への NOX4 の関与を証明することを目的とした。

細胞内のコラーゲン産生はキットを用いて定量し検討した。まず、マウスの腸管筋線維芽細胞株である LmcMF 細胞を用いて、TGF- β 1 刺激による細胞内コラーゲン産生増加を確認した。このコラーゲン産生増加は TGF- β 受容体 (SMAD2/3) の阻害剤である SB525334 にて有意に抑制された。次に、LmcMF 細胞を TGF- β 1 で刺激し NADPH oxidase family の mRNA 発現を real time PCR 法で解析したところ、NOX4 mRNA の発現のみが有意に誘導されていた。LmcMF 細胞の TGF β 刺激による ROS の産生については、5-(and_6)-carboxy-2',7'-dichlorodihydrofluorescein (CM-H₂DCFDA) を用いた蛍光顕微鏡で可視化・定量化し、TGF- β 1 刺激によって ROS の産生が増加していることが確認された。さらに、NOX の阻害剤である diphenyleneiodonium (DPI) や NOX4 の発現を特異的に阻害する NOX4 siRNA 処理により、TGF- β 1 刺激で誘導される ROS の産生増加がキャンセルされた。また、DPI 投与ならびに NOX4 siRNA 処理により、TGF- β 1 刺激で誘導される collagen I の産生増加は阻害された。これらの結果より、腸管筋線維芽細胞株である LmcMF 細胞を用いた腸管線維化モデルにおいては、TGF- β 1 刺激によるコラーゲン産生誘導は NOX4 の誘導と ROS の産生を介していることが証明された。

以上が本論文の要旨であるが、NOX4 が腸管狭窄の原因となる過剰な線維化に対する治療ターゲットとなり得ることが示唆された点で、医学上価値ある研究と認める。

平成31年1月17日

審査委員 教授 福 井 道 明 ㊦

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊦

審査委員 教授 松 田 修 ㊦