

## 審査の結果の要旨

氏名 玉城 善史郎

本研究は、全身性強皮症の皮膚の線維化に対して、**rapamycin** という薬剤が線維化を抑制することにより、治療薬として有望であるかどうかを明らかにするために、皮膚の線維化に最も重要な分子である I 型コラーゲンの産生や分解を中心に、正常および強皮症皮膚線維芽細胞に与える影響について検討し、下記の結果を得ている。

1. 強皮症および正常皮膚線維芽細胞に対して、**rapamycin 10nM** までの範囲の濃度の添加においても細胞毒性が認められず、臨床的に使用される範囲内の濃度では細胞毒性は見られないことが示された。
2. 正常皮膚線維芽細胞に **rapamycin** を添加すると、I 型コラーゲンの蛋白産生の低下が **cell lysate, supernatant** でともにみられた。さらに、**TGF- $\beta$**  刺激により I 型コラーゲンの蛋白産生量が亢進した正常皮膚線維芽細胞に対しても **rapamycin** 添加により I 型コラーゲン蛋白の産生が抑制された。
3. 強皮症線維芽細胞に **rapamycin** を添加すると I 型コラーゲンの蛋白量の低下がみられた。**Rapamycin** による I 型コラーゲン蛋白の発現抑制作用の機序について検討するために I 型コラーゲンの **mRNA** 発現量、遺伝子転写活性、**mRNA stability** を測定した。その結果、**rapamycin** 添加により I 型コラーゲンの **mRNA** の発現量が低下し、**mRNA stability** の低下が見られたが、遺伝子転写活性には有意な変化はみられず、転写後レベルで制御されていることが確認された。
4. 強皮症皮膚線維芽細胞の **rapamycin** 添加による **MMP-1** 産生への影響について検討した。強皮症皮膚線維芽細胞において **rapamycin** 添加により、**cell lysate, supernatant** ともに **MMP-1** の蛋白量の有意な亢進、さらに **mRNA** 発現量の亢進もみられた。**MMP-1** の **mRNA** 発現量の増加に関しては **MMP-1** 遺伝子転写活性の亢進によるものであることも示された。**Rapamycin** による **MMP-1** の発現亢進が、細胞外の I 型コラーゲンの分解やその過剰沈着を抑制する可能性が示唆された。
5. 強皮症皮膚線維芽細胞の I 型コラーゲン産生過剰に重要な役割を示す **TGF- $\beta$**  が **p70S6 kinase** のリン酸化に関与するか検討したところ、**TGF- $\beta$**  刺激にて **p70S6 kinase** のリン酸化がおこり、**TGF- $\beta$**  刺激による I 型コラーゲンの蛋白発現増加に **p70S6 kinase** のリン酸化が関与している可能性が示唆された。さらに、強皮症皮膚線維芽細胞に **TGF- $\beta$**  刺激を加えた後、**rapamycin** 添加した場合、**p70S6 kinase** のリン酸化が抑制され、強皮症皮膚線維芽細胞における **rapamycin** 添加による I 型コラーゲンの低下には **p70S6 kinase** のリン酸化の抑制が関与している可能性が示唆された。

以上、本論文は、強皮症皮膚線維芽細胞において、rapamycin が I 型コラーゲンの産生低下と分解亢進を促し、線維化を抑制することを示した。本研究により、rapamycin が全身性強皮症の皮膚の線維化の治療として有望な薬剤となりうることが示され、学位の授与に値するものと考えられる。