

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 綾部 信哉

論文題目

肝および肺の線維芽細胞活性化におけるプロスタグランジンの役割に関する研究

線維芽細胞は多くの組織に存在し、線維化などの病態形成に関与する。肝臓の線維芽細胞は強い収縮性を示すことで肝内圧の上昇を引き起こし、肝線維症の病態形成に関与する。肺の線維芽細胞は基底膜が破壊されるような炎症や損傷を受けて活性化し、細胞外マトリックスを放出して肺胞構造を崩壊させる。

プロスタグランジンは組織の炎症に際して局所的に放出される。肝臓の線維芽細胞においては、PGD₂がトロンボキサン受容体を介して細胞収縮を誘起することが本研究室から報告された。しかし PGD₂の本来の受容体である DP 受容体を介した作用や、PGE₂による作用は明らかにされていない。肺においては、PGE₂が線維芽細胞の活性を抑制することが報告されているが、PGD₂が肺の線維芽細胞に及ぼす影響や、その情報伝達経路については報告がない。

これらの背景をふまえ、本研究では肝臓の線維芽細胞の収縮作用、および肺の線維芽細胞のコラーゲン産生作用に対する PGE₂ および PGD₂ の役割を明らかにするとともに、肺線維症モデル動物を用いて、肺線維化に対する PGD₂ の病態生理機能を明らかにすることを目的として実験を行った。

【結果および考察】

肝臓の線維芽細胞において PGE₂ は収縮作用を示した。この作用は EP₃ 受容体作動薬のみで再現された。EP₃ 受容体作動薬および 1 マイクロ M までの PGE₂ による収縮作用は、細胞内 Ca の上昇を伴わず、Ca²⁺非依存的な PKC を介した経路であることが示唆された。一方で 10 マイクロ M PGE₂ は FP 受容体と交叉反応を示し、細胞内 Ca の上昇を伴うことでより強い細胞収縮を引き起こすことが示唆された。

ブラジキニンによって誘起された細胞収縮に対する DP 受容体の役割を検討した結果、DP 受容体作動薬は収縮を抑制した。ブラジキニンで誘起された細胞内 Ca 濃度の上昇は DP 受容体作動薬によって部分的にのみ抑制された。DP 受容体刺激によって線維芽細胞内の cAMP 量は増加し、この収縮抑制作用は PKA 阻害薬によって解除された。このことから、DP 受容体刺激による収縮抑制作用は cAMP-PKA を介した細胞内 Ca 依存的な経路と、Ca 非依存的な経路の両方を介した経路であることが示唆された。

肺の線維芽細胞において、PGD₂ は TGF- α で誘起されたコラーゲン産生を抑制した。この抑制作用は DP 受容体作動薬のみで再現され、肺の線維芽細胞においても PGD₂ および DP 受容体作動薬の刺激によって細胞内 cAMP 量が増加した。DP 受容体刺激による抑制

作用は PKA アナログによって再現されたが、PKA 阻害剤では抑制作用が部分的にしか解除されなかった。このことから、PGD2 によるコラーゲン抑制作用は DP 受容体を介した cAMP 量の上昇による作用と考えられるが、PKA 依存的な経路と非依存的な経路の両方を介している可能性が示唆された。

肺の線維化に対する PGD2 の病態生理機能を明らかにするため、PGD2 合成酵素である H-PGDS を欠損したマウスを用いて肺線維症モデル動物を作製したところ、肺におけるコラーゲン蓄積量が増加した。H-PGDS は上皮細胞や炎症性細胞に発現していたことから、これらの細胞から産生された PGD2 が病巣の線維芽細胞に作用する可能性が示唆された。その一方で、H-PGDS 欠損マウスでは肺血管の透過性が亢進し、炎症性メディエーター発現量も増加していた。このことから、血管内皮細胞や炎症性細胞などに対する作用も同時に失われた結果として、H-PGDS KO マウスで肺の線維化が増悪することが示唆された。

【結語】

PGD2 は交叉反応によって TP 受容体を介した肝臓の線維芽細胞収縮を誘起するが、PGE2 も EP3 受容体を介して収縮を誘起した。高濃度の PGE2 は、FP 受容体に交叉反応を示すことでさらに強力な収縮を誘起した。その一方で、PGE2 と PGD2 は、肺の線維芽細胞においてはそれぞれの本来の受容体である EP2、EP4、および DP 受容体を介して、ともにコラーゲン産生を抑制した。すなわち、肝臓や肺の線維芽細胞に対する PGE2 や PGD2 の作用は、プロスタグランジンの種類によるのではなく、作用する組織によって異なることが明らかになった。その一方で、DP 受容体は、肝臓の線維芽細胞においても cAMP-PKA シグナルを活性化させることで細胞収縮を抑制した。これらの知見は、線維芽細胞におけるプロスタグランジンの各受容体を介した作用の複雑さが、線維化の病態形成における COX-2 の関与をより複雑なものにしている可能性を示している。

さらに、H-PGDS 欠損マウスを用いた検討から、H-PGDS から産生される PGD2 が線維芽細胞を含めた多くの細胞に作用して肺線維症に抑制的に作用することが示唆された。

以上を要約すると、肝および肺の線維芽細胞の活性化におけるプロスタグランジンの役割を収縮機能ならびに線維化の観点から解明したものであり、学術上寄与するところは少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位に値するものと判断した。