

氏 名 (本 籍) 田 崎 和 仁 (大阪府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 6 6 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Pro-inflammatory Cytokine-induced Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1)  
Secretion in Human Pancreatic Periacinar Myofibroblasts

(ヒト膵筋線維芽細胞における炎症性サイトカインにより誘導されるマトリックスメタロプロテアーゼ-1の分泌について)

審 査 委 員 主 査 教 授 堀 江 稔

副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐

副 査 教 授 竹 内 義 博

## 論文内容要旨

*整理番号	463	(ふりがな) 氏名	たさき かずひと 田崎 和仁
学位論文題目	Pro-inflammatory Cytokine-induced Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) Secretion in Human Pancreatic Periacinar Myofibroblasts (ヒト膵筋線維芽細胞における炎症性サイトカインにより誘導されるマトリックスメタロプロテアーゼ-1の分泌について)		
<p>〔目的〕膵の線維化、特に小葉間の線維化は慢性膵炎の特徴的な組織像で、実質細胞が破壊され外分泌機能の荒廃へと進展する。我々は、膵腺房周囲に存在する間葉系細胞（膵筋線維芽細胞、以下 PFC）を単離、培養し PFC の膵線維化への関与について検討してきた。その中で PFC が collagen 以外にも MMP やその inhibitor である TIMP を産生し、膵の線維化の促進、抑制に動的に関与している可能性を示してきた。線維化は間質細胞におけるコラーゲン合成とその分解の不均衡が重要であるが、MMP-1 はコラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスの分解、再構築に重要な役割を演じている。今回我々は、PFC における pro-inflammatory cytokine の刺激により誘導される、MMP-1 産生のシグナル伝達経路について検討した。</p> <p>〔方法〕ヒト膵腺房より PFC を単離培養し、継代培養 3 - 6 代目の細胞群を用い以下の実験を行った。1)PFC を 24well culture plate に <math>5 \times 10^4</math>/well で播種し、IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> で刺激し、24 時間後の培養上清中の MMP-1 産生量を ELISA 法にて測定した。2)PFC を IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> で刺激したものに MEK inhibitor (PD98059 以下 PD), p38 MAPK inhibitor (SB203580 以下 SB), PKC inhibitor (GF109203X 以下 GF), NF<math>\kappa</math>B inhibitor (PDTC) を加え、MMP-1 mRNA の変化について、Northern blot 法を用いて検討した。3)MMP-1 の酵素活性について、IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> で刺激した後 MMP-1 activity assay system で測定した。4)Western blot 法にて MMP-1 の蛋白発現の確認を行った。5) IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> の刺激に対して前述の inhibitor を添加し、その効果を同様に ELISA 法および Northern blot 法で検討した。</p> <p>〔結果〕1)ELISA では IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> により PFC の MMP-1 産生は、濃度および時間依存性に増強された。2)MMP-1 は mRNA level でも時間依存性に増加を認めた。3) IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math> で増加した MMP-1 は 85% が潜在型として分泌されていた。4)Western blot 法で MMP-1 の潜在型、活性型両方の蛋白発現を確認した。5)シグナル伝達については、IL-1<math>\beta</math>、TNF-<math>\alpha</math> により誘導された MMP-1 産生は ELISA および Northern blot 法共に、PD では用量依存性に抑制傾向があったが、SB, GF, PDTC では有意な変化は認めなかった。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

〔考察〕 腓筋線維芽細胞は、炎症でダメージを受けた組織の線維化に重要な役割を果たしていると考えられてきた。慢性腓炎の病因はまだはっきりと解明されていないが、我々は今までに腓筋線維芽細胞において、細胞増殖とコラーゲン合成が IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PDGF, TGF- $\beta$  といったサイトカインで制御されていることを報告してきた。MMP-1 の分泌も本研究で、IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  といったサイトカインで増強されていたことから、腓筋線維芽細胞が炎症でダメージを受けた腓組織の再構築の役割を果たしている可能性がある。MMP-1 のサイトカインによる増強は PD で抑制されたが、SB や NF- $\kappa$ B では抑制を受けなかった。NF- $\kappa$ B は重要な転写因子であり、PFC でも IL-8 等のケモカインの発現に関わっているが、MMP-1 の遺伝子発現は別の因子で制御されていると考えられる。また腓筋線維芽細胞において、MEK が IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  で誘導される MMP-1 分泌の主要経路にあると言える。コラーゲンの合成と分解の不均衡が、ダメージを受けた腓組織の線維化の原因である。腓筋線維芽細胞はこの経路を介し、MMP や TIMP といったさまざまな因子のバランスを能動的に制御している可能性が示唆された。

〔結語〕 腓筋線維芽細胞において、炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  に反応して MMP-1 分泌が促進される。その制御は MEK を介した経路が主であり、腓でのコラーゲンをはじめとする細胞外マトリックスの分解、再構築に重要な役割を演じていると考えられた。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	468	氏名	田 崎 和 仁
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>慢性膵炎における線維化は、コラーゲン合成系とその分解系の不均衡が重要である。今回コラーゲンの分解系に注目し、ヒト膵筋線維芽細胞において炎症性サイトカイン存在下で、MMP-1の動態について検討した。</p> <p>その結果蛋白、酵素活性、mRNA レベルで MMP-1 産生は、IL-1<math>\beta</math>, TNF-<math>\alpha</math>により濃度および時間依存性に増強された。また、そのシグナル伝達については、MEK を介する経路が主であると考えられた。</p> <p>今回の検討から、慢性膵炎のような炎症性サイトカイン存在下では、コラーゲン合成系のみならず、分解系の亢進も惹起されていることが明らかになった。このことは、生体内において、線維化のバランスを取る上で、重要な事象であると考えられた。</p> <p>本研究は、慢性膵炎におけるコラーゲン分解系の調節機構に言及したもので、博士（医学）の学位授与に値するものと評価される。</p>			
(平成16年2月19日)			