

氏名(本籍)	郭 宝良(中国)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第488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17年3月25日
学位論文題目	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$ Ligands Inhibit TGF- $\beta$ 1-Induced Fibronectin Expression in Glomerular Mesangial Cells  (メサンギウム細胞において、PPAR $\alpha$ リガンドはTGF- $\beta$ 1によるフィブ ロネクチン産生を抑制する)
審査委員	主査 教授 堀池 喜八郎 副査 教授 岡田 裕作 副査 教授 工藤 基

## 論文内容要旨

*整理番号	492	(ふりがな) 氏名	かく ほうりょう 郭 宝良
学位論文題目	<p>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-<math>\gamma</math> Ligands Inhibit TGF-<math>\beta</math>1-Induced Fibronectin Expression in Glomerular Mesangial Cells. (メサンギウム細胞において、PPAR<math>\gamma</math>リガンドは TGF-<math>\beta</math>によるフィブロネクチン産生を抑制する)</p>		
<p><b>【背景と目的】</b> Transforming growth factor - <math>\beta</math> (TGF-<math>\beta</math>) は、細胞外基質の産生と蓄積に重要な役割を演じている。一方、近年、核内受容体 peroxisome proliferator-activated receptor <math>\gamma</math> (PPAR-<math>\gamma</math>)のリガンドは、抗糖尿病作用に加えて、抗炎症作用、抗癌作用を有することが報告されており、その多彩な作用が注目されている。そこで、我々は、培養メサンギウム細胞における PPAR-<math>\gamma</math>の抗線維化作用を検討するため、TGF-<math>\beta</math>刺激によるフィブロネクチン発現に対する PPAR-<math>\gamma</math>リガンドの効果と、その作用機序を解明することを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b> PPAR-<math>\gamma</math>リガンドとして、ピオグリタゾンと 15-deoxy-<math>\Delta</math> 12,14-prostaglandin J<sub>2</sub> (15d-PGJ<sub>2</sub>)を用いた。TGF-<math>\beta</math>刺激によるフィブロネクチン発現はノーザンブロット法で、PPAR-<math>\gamma</math>の発現は RT-PCR 法で検討した。TGF-<math>\beta</math>のシグナル伝達について、TGF-<math>\beta</math>1 刺激による Extracellular signal-regulated kinase (ERK)、p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK)と Smad2 のリン酸化をウェスタンブロット法で検討した。Activator protein-1(AP-1)と Smad binding element (SBE) の転写活性は、3<math>\times</math>AP-1-Luc と 4<math>\times</math>SBE-Luc reporter を用いたレポーターアッセイ法にて、核内転写因子 AP-1 の DNA 結合能はゲルシフト法で解析した。</p> <p><b>【結果】</b> メサンギウム細胞において、TGF-<math>\beta</math> (2.5 ng/ml)刺激によるフィブロネクチン mRNA 発現は時間依存性、濃度依存性に増強し、その増強は PPAR<math>\gamma</math>の合成リガンドであるピオグリタゾンの前処置より濃度依存性に有意に抑制された。TGF-<math>\beta</math>による ERK、p38 MAPK 及び Smad2 の活性化は、ピオグリタゾン前処置により影響を受けなかった。ピオグリタゾンは TGF-<math>\beta</math>による 3<math>\times</math>AP-1 のレポーターの活性化を有意に抑制したが、4<math>\times</math>SBE レポーター活性には影響を及ぼさなかった。TGF-<math>\beta</math>により核内転写因子 AP-1 の DNA 結合能は、有意に増強したが、ピオグリタゾンの前処置により抑制された。さらに、PPAR-<math>\gamma</math>の内因性リガンドである 15d-PGJ<sub>2</sub>も、</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。

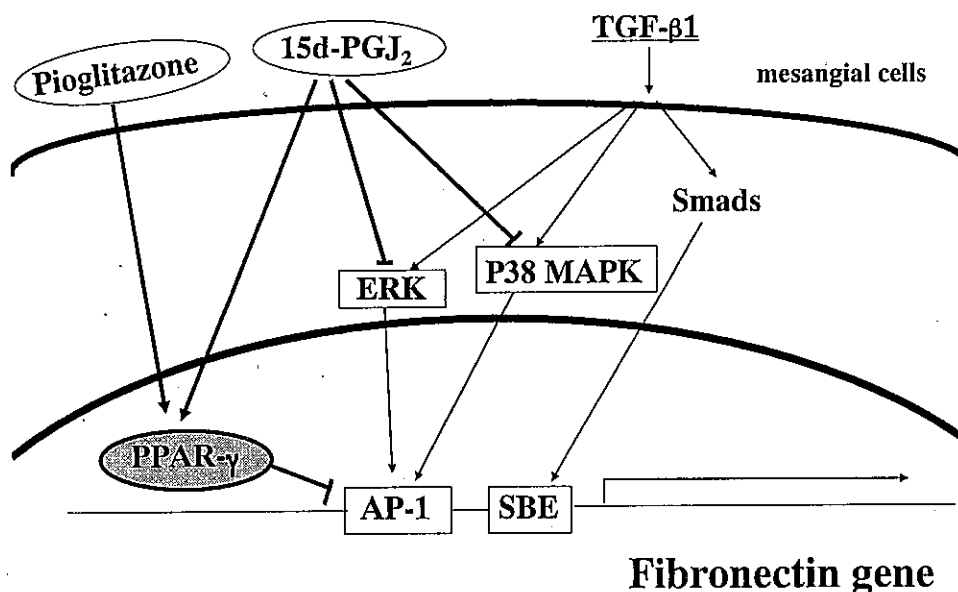
(続 紙)

TGF- $\beta$ 刺激によるフィブロネクチン発現とAP-1の活性化を抑制した。15d-PGJ<sub>2</sub>は、ピオグリタゾンと同様にTGF- $\beta$ 刺激によるsmad2の活性化には影響を及ぼさなかったが、ピオグリタゾンの作用とは異なり、ERKとp38 MAPK活性化を抑制した。また、PPAR- $\gamma$ 過剰発現は、TGF- $\beta$ 刺激によるフィブロネクチンの発現とAP-1の転写活性を抑制したが、ERKとp38 MAPKの活性には及ぼさなかった。

【考察】 図に示したように、PPAR $\gamma$ の合成リガンドであるピオグリタゾンは、PPAR- $\gamma$ 依存性にTGF- $\beta$ によるフィブロネクチン発現を抑制した。PPAR- $\gamma$ の内因性リガンドである15d-PGJ<sub>2</sub>は、PPAR- $\gamma$ 依存性と非依存性経路を介して、TGF- $\beta$ 刺激によるフィブロネクチン発現を抑制した。15d-PGJ<sub>2</sub>のERKとp38 MAPK活性化を抑制する詳細な分子機構は現時点では不明であるが、TGF- $\beta$ 刺激によるTGF- $\beta$  activated kinase (TAK)の経路を抑制する可能性があると考えられる。

【結論】 本研究の結果により、PPAR- $\gamma$ のアゴニストは抗細胞外基質産生作用があり、進行性腎疾患に対する治療効果がある可能性が示唆された。

## SUMMARY



### 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	492	氏名	郭 宝 良
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>本研究は、糖尿病性腎症の発症・進展の機構を解明するために、培養メサンギウム細胞を用いて、transforming growth factor (TGF)-<math>\beta</math>1 刺激によるフィブロネクチン発現に対する peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-<math>\gamma</math> のリガンドの効果とその作用機序を検討したものである。</p> <p>その結果、次のことを明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) PPAR-<math>\gamma</math> の合成リガンドであるピオグリタゾン<sup>13</sup>は、PPAR-<math>\gamma</math> を介して転写因子である activator protein-1 (AP-1) の活性化を抑制する。</li><li>2) PPAR-<math>\gamma</math> の内因性リガンドである 15-deoxy-<math>\Delta^{12,14}</math>-prostaglandin J<sub>2</sub> は、PPAR-<math>\gamma</math> 依存性と非依存性の経路を介して AP-1 の活性化を抑制する。</li><li>3) その結果、これらリガンドは TGF-<math>\beta</math>1 刺激によるフィブロネクチンの発現を抑制する。</li></ol> <p>このように本論文は、PPAR-<math>\gamma</math> のアゴニストの抗線維化作用を明らかにし、あわせて進行性腎疾患に対する治療薬としての可能性を示唆したものである。よって、博士(医学)の学位論文に値する。</p>			
(平成 17 年 2 月 4 日)			