

平成29年2月

福嶋健人 学位論文審査要旨

主査 景山誠二
副査 林 一彦
同 清水英治

主論文

γ -tocotrienol inhibits TGF- β 1-induced contractile phenotype expression of human airway smooth muscle cells

(γ -トコトリエノールはヒト気道平滑筋細胞におけるTGF- β 1誘導収縮性フェノタイプ発現を阻害する)

(著者：福嶋健人、山崎章、原田智也、千酌浩樹、渡部仁成、岡崎亮太、高田美樹、長谷川泰之、倉井淳、矢内正晶、山本章裕、末田悠里子、Andrew J. Halayko、清水英治)

平成29年 Yonago Acta Medica 60巻 16頁～24頁

参考論文

1. Causes of death in patients with asthma and asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome

(喘息と喘息-慢性閉塞性肺疾患オーバーラップ症候群患者における死因)

(著者：原田智也、山崎章、福嶋健人、橋本潔、高田美樹、小谷昌広、岡崎亮太、武田賢一、渡部仁成、倉井淳、清水英治)

平成27年 International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease
10巻 595頁～602頁

学位論文要旨

γ -tocotrienol inhibits TGF- β 1-induced contractile phenotype expression of human airway smooth muscle cells

(γ -トコトリエノールはヒト気道平滑筋細胞におけるTGF- β 1誘導収縮性フェノタイプ発現を阻害する)

気管支喘息は好酸球やリンパ球などによって引き起こされる慢性の気道炎症が特徴であり、この気道炎症による酸化ストレスや気道リモデリングといった気道構造の変化が喘息の難治化に関与している。気道リモデリングでは平滑筋の肥厚が認められるが、これには気道平滑筋細胞の遊走や増殖、肥大、細胞外基質の産生などが関与している。

ビタミンEファミリーのメンバーの1つであるトコトリエノールは、 γ -トコトリエノールを含む4つの異なるアイソフォームから成る。これらは抗酸化活性を有しているだけでなく、さまざまな細胞に対して薬理的効果があり、乳癌や前立腺癌、肺癌細胞株では増殖阻害作用が報告されている。

また、RhoA/Rhoキナーゼ経路の活性化は気道リモデリングの重要な調節因子であることが報告されているが、著者らはこれまで γ -トコトリエノールがRhoA活性阻害することでPDGF-BBによるヒト気道平滑筋細胞の増殖および遊走を抑制することを明らかにしてきた。そこで本研究では、気道リモデリングの中で重要なメディエーターであるTGF- β 1によるヒト気道平滑筋の収縮性フェノタイプへの分化と細胞外基質の産生が、 γ -トコトリエノールによって抑制されるか否かについて検討した。

方法

実験には不死化したヒト気道平滑筋細胞を用いた。 γ -トコトリエノールを1時間培養後、TGF- β 1で48時間刺激し、 α 平滑筋アクチンの発現を蛍光免疫染色により、また、 α 平滑筋アクチン、フィブロネクチン、コラーゲンIの蛋白発現量をウェスタンブロッティング法で評価した。また、TGF- β 1刺激に関連するinhibitor of differentiation-1 (Id1)、Smad2、Smad3のリン酸化についてはウェスタンブロッティング法で評価した。また、RhoAの活性化は、Active Rho Detection Kitを用いて検討した。

結果

TGF- β 1により α 平滑筋アクチン、フィブロネクチン、コラーゲンIの蛋白発現量は大幅に

増加した。 γ -トコトリエノールはそれらの蛋白発現量を抑制した。また、 γ -トコトリエノールによりRhoAの活性化は抑制されたが、Smad2およびSmad3のリン酸化は抑制されなかった。また、Id1はTGF- β 1刺激でその発現量は増加したが、 γ -トコトリエノールはその発現量をやや低下させたものの、統計学的に有意差はみられなかった。

考 察

γ -トコトリエノールは、TGF- β 1によるヒト気道平滑筋細胞の収縮性フェノタイプへの分化およびコラーゲンI、フィブロネクチンの産生を阻害した。また、この γ -トコトリエノールの抑制効果は、Id1およびSmad2、Smad3の経路ではなく、RhoA/ROCKの経路を抑制することにより、もたらされることも明らかになった。気道平滑筋細胞の収縮性フェノタイプへの分化や細胞外基質の産生は気道リモデリングの病態に大きく関与するため、これらの知見は非常に重要である。本研究が示した結果は、 γ -トコトリエノールが気道リモデリングを抑制できる可能性を示唆するものと考えられた。

今回の研究で使用した γ -トコトリエノールの濃度（10～50 μ M）では、ヒト平滑筋細胞の細胞傷害性は確認されなかったが、他の細胞では細胞傷害性を示すことが報告されている。また、他の報告によれば、経口投与によりこのレベルまで血清濃度を上昇できないため、経口での臨床応用は困難なことが推測される。この点に関しては、吸入療法がヒトの肺に有効な濃度で到達させる可能性があり、1つの解決方法になるかもしれない。

著者らは、 γ -トコトリエノールがId1の発現を抑制する過程を経て、収縮性フェノタイプへの分化を抑制すると推測した。しかし、 γ -トコトリエノールによるId1の変化はみられなかった。そこで、Rho GTPaseがId1の発現を調節することにより、不死化した上皮細胞の浸潤を誘導するとの報告に基づき、ROCK阻害薬によるId1の発現を検討した。その結果、TGF- β 1によるId1の発現は、ROCK阻害薬により変化しなかった。したがって、 γ -トコトリエノールは、Id1を介さず直接RhoAの活性化を阻害することにより、TGF- β 1の収縮性フェノタイプへの分化、細胞外基質の産生を抑制する可能性が示唆された。

結 論

本研究は、 γ -トコトリエノールがTGF- β 1によって誘導されるヒト気道平滑筋細胞の収縮性フェノタイプへの分化と細胞外基質産生に対する抑制効果を示した。今回の新しい知見は、 γ -トコトリエノールがRhoAの活性化を抑制することにより、気管支喘息でみられる気道リモデリングを調節するための治療薬となる可能性があることを示唆するものである。