

論文内容要旨

Inhibition of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Attenuates

Transforming Growth Factor- β -Dependent

Epithelial Mesenchymal Transition and

Differentiation of Fibroblasts to Myofibroblasts

(Plasminogen Activator Inhibitor-1 の抑制は、

Transforming Growth Factor- β 依存性の上皮間葉移行と

線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を減弱させる)

PLoS One, 11: e0148969, 2016.

主指導教員：木原 康樹教授

(応用生命科学部門 循環器内科学)

副指導教員：秀 道広教授

(統合健康科学部門 皮膚科学)

副指導教員：服部 登准教授

(応用生命科学部門 分子内科学)

大森 慶太郎

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

論文要旨

肺線維症の進行には多くの因子が関与するが、transforming growth factor- β (TGF- β)はその中心的役割を担っている。また代表的な線溶系抑制因子である plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)も肺線維化に強く関与することが示されているが、PAI-1の最も強力な発現促進因子がTGF- β であるという興味深い事実も明らかとなっている。TGF- β とPAI-1の関係については、肺内にTGF- β を過剰発現させることで作製した肺線維症モデルマウスに、PAI-1阻害剤を経口投与すると肺線維化が抑制されるとの報告や、*in vitro*においてマウス肺上皮細胞にTGF- β を加えると間葉系細胞への変化（上皮間葉移行; epithelial-mesenchymal transition, EMT)が誘導されるが、PAI-1 siRNAでPAI-1をノックダウンさせるとEMTが抑制されることが示されている。これらの知見からPAI-1はTGF- β がもたらす線維化作用に関与していること、さらにPAI-1の阻害によりTGF- β の線維化活性を減弱できる可能性を示唆している。今回我々は新規低分子化合物のPAI-1阻害薬SK-216を用いて、PAI-1を阻害した際のTGF- β 誘導線維化作用への影響について検証した。

まず*in vitro*にてTGF- β 誘導EMTに対するSK-216の影響について検証した。ヒト肺上皮細胞株A549細胞にTGF- β を作用させるとEMTが誘導され（上皮系マーカーの発現減少、間葉系マーカーの発現増加）、同時にA549細胞からPAI-1や内因性TGF- β の産生が促進されるが、SK-216はこれらの変化をすべて抑制した。また同様にマウス肺上皮細胞株LA-4細胞においてもSK-216はTGF- β 誘導EMTを抑制した。SK-216によるEMT抑制の機序を探るため、SmadやERKシグナル経路への影響を調べたが、SK-216はTGF- β 刺激後のSmadやERKのリン酸化に対しては抑制効果を認めなかった。次に、TGF- β が誘導する肺線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化に対するSK-216の影響について検証した。ヒト肺線維芽細胞株MRC-5細胞にTGF- β を作用させると α -SMAの発現増加を伴った筋線維芽細胞への分化が誘導されるが、SK-216はこの分化を抑制した。初代培養のヒト肺線維芽細胞を用いても同様の結果が得られた。次に、*in vivo*にてもSK-216が抗線維化作用を発揮するのかを検証する目的で、ブレオマイシンを気管内投与することで肺線維症を惹起させるモデルマウスにSK-216を経口投与した。SK-216を投与された肺線維症モデルマウスでは、非投与の肺線維症モデルマウスに比して、肺ハイドロキシプロリンの増加量、組織所見での肺の線維化程度、コラーゲン沈着と α -SMA発現量が軽度であった。

これらの結果からSK-216にはTGF- β が誘導するEMTや筋線維芽細胞分化を抑制する効果のあることが明らかとなり、PAI-1がTGF- β の下流effectorとしてその線維化促進作用に関与していることも判明した。またSK-216の経口投与がブレオマイシン肺線維症を軽減させたことから、PAI-1の抑制は*in vivo*においても抗線維化効果を有することが示された。本研究の成果により、PAI-1阻害薬によるPAI-1の抑制が肺線維症に対する新たな治療手段になる可能性が示されたのである。