論文の内容の要旨

氏名：稲見　真木子
専攻分野の名称：博士（医学）
論文題名： Reduction of Dimethylnitrosamine-Induced Liver Fibrosis by the Novel Gene Regulator PI Polyamide Targeting Transforming Growth Factor β1 Gene
(Dimethylnitrosamine 誘発肝線維化モデルに対する TGFβ1 をターゲットにした新規遺伝子発現制御薬 PI ポリアミドの効果)

【目的】Pyrrole-imidazole polyamide（以下 PI ポリアミド）は、塩基配列特異的に DNA に結合するペプチド化合物で、転写因子結合領域に結合してその遺伝子発現を調節する遺伝子発現制御薬である。慢性肝疾患において transforming growth factorβ1 (TGFβ1) が線維化の進行に関して主要な役割を担っている。本研究ではラット TGFβ1 の遺伝子発現を抑制する PI ポリアミドの肝線維化に対する効果を検討した。
【方法】ラット TGFβ 1 プロモーター領域の AP-1 結合部位を標的に TGFβ1 PI ポリアミドをデザインし、コントロールとしてミスマッチポリアミドを用いた。
In vitro の実験として、ラット肝星細胞由来 RI-T 細胞に PI ポリアミドを添加後、phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)誘導性の TGFβ1 mRNA の発現を real time PCR(RT-PCR)にて解析した。
In vivo での評価のため Sprague-Dawley ラットにおける dimethylnitrosamine（DMN）誘発性の肝線維化に対する PI ポリアミドの効果を解析した。肝臓の組織学的な評価を行い、線維化に関連する遺伝子の mRNA の発現変化を RT-PCR を用いて検討した。
【結果】RI-T 細胞において、TGFβ1 PI ポリアミドは PMA 誘導性の TGFβ1 mRNA の発現を有意に抑制した。ラットにおいて、DMN 投与により正常肝小葉構造の破壊、bridging necrosis、炎症細胞浸潤や偽小葉形成などが見られたが、TGFβ1 PI ポリアミドによりそれらの変化が抑制された。
Azan 染色陽性（膠原線維）面積の定量では DMN 投与で増加した線維化面積は TGFβ1 PI ポリアミド投与により減少した。
DMN 投与による α-smooth muscle actin（α-SMA）、collagen type Ⅳの免疫染色での発現増加は、TGFβ1 PI ポリアミドにより抑制された。DMN 投与によって TGFβ1、α-SMA、collagen type I α 1、collagen type Ⅳ、matrix metalloproteinase-2（MMP2）、tissue inhibitor of metalloproteinase-1（TIMP1）の mRNA 発現は増加したが、TGFβ1 PI ポリアミドにより α-SMA と MMP2 の発現は有意に減少し、他の遺伝子は減少傾向を示した。
ラットへの PI ポリアミド投与による明らかな副作用は認められなかった。
【考察】TGFβ1 をターゲットにした PI ポリアミドは、慢性肝疾患における肝線維化抑制薬となりえると考えられた。