



Title 論文題目	Rosiglitazone and ROCK Inhibitors Modulate Fibrogenetic Changes in TGF- $\beta$ 2 Treated Human Conjunctival Fibroblasts (HconF) in Different Manners (TGF- $\beta$ 2で誘導したヒト結膜線維芽細胞の線維化におけるロシグリタゾンとROCK阻害剤の異なる制御機序)
Author(s) 著者	大内, 夢衣花
Degree number 学位記番号	甲第3153号
Degree name 学位の種別	博士(医学)
Issue Date 学位取得年月日	2022-03-31
Original Article 原著論文	Int J Mol Sci. 2021 Jul 8;22(14):7335
Doc URL	
DOI	10.3390/ijms22147335
Resource Version	Publisher Version

## 学位論文の内容の要旨

報告番号	甲第 1517 号	氏名	大内 夢衣花
論文題名			
Rosiglitazone and ROCK Inhibitors Modulate Fibrogenetic Changes in TGF- $\beta$ 2 Treated Human Conjunctival Fibroblasts (HconF) in Different Manners. Int J Mol Sci. 2021 Jul 8;22(14):7335. TGF- $\beta$ 2 で誘導したヒト結膜線維芽細胞の線維化におけるロシグリタゾンと ROCK 阻害剤の異なる制御機序			
研究目的			
<u>Rho-associated coiled-coil containing protein kinase (ROCK)1/2 阻害剤 ; Ripasudil (Rip) 及び ROCK2 阻害剤 ; KD025 及び Peroxisome proliferator-activated Receptor <math>\gamma</math> (PPAR<math>\gamma</math>) アゴニスト ; Rosiglitazone (Rosi) が、TGF<math>\beta</math>2 を用いてヒト結膜線維芽細胞 (HconF) で誘導した線維化に対する影響を 2 次元 (2D) 及び 3 次元 (3D) 細胞培養を用いて検討した。</u>			
研究方法			
<u>TGF<math>\beta</math>2 (5 ng/mL) で刺激した 2D 培養または 3D 培養 HconF 細胞に対し、Rip (50 <math>\mu</math>M)、KD025 (50 <math>\mu</math>M) および Rosi (10 <math>\mu</math>M) のいずれか加え以下の検討を行った。</u>			
1) <u>2D HConF 細胞において Transendothelial electrical resistance (TEER) によりバリア機能の検討。</u>			
2) <u>3D HConF 細胞に対し spheroid のサイズ及び硬さの検討。</u>			
3) <u>2D および 3D HConF 細胞の各条件で ECM (COL1, COL4 COL6, fibronectin (FN), <math>\alpha</math>-smooth muscle actin (<math>\alpha</math>SMA)) の発現を検討。</u>			
研究成績及び考察			
1) <u>TGF<math>\beta</math>2 は 2D HConF 細胞の TEER 値を有意に上昇させ、その効果は Rosi により有意に抑制された。</u>			
2) <u>TGF<math>\beta</math>2 により 3D HConF spheroid の大きさは変化しないが、硬さを有意に上昇させた。また TGF<math>\beta</math>2 による硬さの上昇は Rip または KD025 によって有意に抑制された。</u>			
3) <u>TGF<math>\beta</math>2 は、2D HConF の COL6 以外の ECM を発現増強させ、3D HConF spheroid で <math>\alpha</math>SMA の有意な発現増加を認めた。Rosi は 3D HConF spheroid の COL1, 4, 6 の有意な遺伝子発現を増加させ、2D HConF の COL6 と 3D HConF spheroid の <math>\alpha</math>SMA の発現を減少させた。KD025 は 2D HConF における TGF<math>\beta</math>2 で誘導された多くの ECM 関連遺伝子</u>			

と 3D HConF spheroid における  $\alpha$ SMA の発現増強を抑制させたが、一方 Rip は 2D HConF における COL4 と  $\alpha$ SMA の発現増加をさらに促進させた。

#### 結論

2D 及び 3D 培養は HConF 細胞が TGF $\beta$ 2 によりそれぞれ平面上および空間上の線維性変化の増加誘導をうまく反映させることが分かり、それらは Rosi および ROCK 阻害剤によって阻害されることを初めて証明した。

- (注) 1 学位論文の内容の要旨は、研究目的・研究方法・研究成績・考察・結論等とし、簡潔に要約すること。
- 2 報告番号は記入しないこと。
  - 3 2 頁目からも外枠だけは必ず付けること。

## 論文審査の要旨及び担当者

(2022年3月31日授与)

報告番号	甲第 1517 号	氏 名	大内 夢衣花
論文審査 担 当 者	主査 大黒 浩教授	副査 宇原 久教授	
	副査 四ッ柳 高敏教授	委員 小島 隆教授	

論文題名	<p>Rosiglitazone and ROCK Inhibitors Modulate Fibrogenetic Changes in TGF-<math>\beta</math>2 Treated Human Conjunctival Fibroblasts (HconF) in Different Manners (TGF-<math>\beta</math>2 で誘導したヒト結膜線維芽細胞の線維化におけるロシグリタゾンと ROCK 阻害剤の異なる制御機序)</p>
<p>結果の要旨</p> <p>TGF <math>\beta</math> 2 で処理したヒト結膜線維芽細胞 (HConF 細胞) の 2D 及び 3D 培養はそれぞれ平面上および空間上の線維性変化の増加誘導をうまく反映させることが分かり、それらはロシグリタゾンおよび ROCK 阻害剤によって阻害されることを初めて証明した。また、TGF-<math>\beta</math> 2 で処理した HconF 細胞の 2D および 3D 細胞培養法はそれぞれ平面及び空間上の結膜線維化モデルにできる可能性を持つことを明らかにした。本研究は従来の 2D 培養に加え新しい 3D 細胞培養を組み合わせることにより複雑な創傷治癒機序の解明および治療法開発のために非常に有益な手法と考えられ、4 名の審査員全員一致で学位 (医学博士) 授与に値するものとの評価を得た。</p>	