

論文内容の要旨

Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta agonist suppressed inflammation and promoted neovascularization in the corneal wound healing process.

(訳) → β/δ 型ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体アゴニストは角膜創傷治癒過程において炎症を抑制する一方、血管新生を促進する

日本医科大学大学院医学研究科 外科系眼科学分野
大学院生 飛田 悠太郎

Int J Mol Sci. 2020;21(15) 掲載

peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)は核内受容体の1つで、 α 、 β/δ 、 γ の3つのアイソフォームが存在し、脂質や糖の代謝に関与している。PPAR α アゴニスト(フェノフィブラート)は脂質異常症治療薬として、PPAR γ アゴニスト(ピオグリタゾン)は糖尿病治療薬として実臨床で使用されている。近年、PPARは炎症抑制に関する役割が注目されている。我々はこれまで、角膜アルカリ外傷モデルを用いてPPAR α および γ アゴニストの抗炎症作用・血管新生抑制作用を報告してきた。今回、前回までと同様に角膜アルカリ外傷モデルを用いて、PPAR β/δ アゴニスト点眼の炎症、血管新生への影響を調査した。

PPAR β/δ の選択的アゴニストであるGW501516の点眼と基剤点眼を作成し、アルカリ外傷作成後のラット角膜にそれぞれを1日2回点眼し角膜創傷治癒過程を病理学的、免疫組織学的、分子生物学的に比較検討を行った。

免疫染色ではPPAR β/δ 群では基剤群と比較し好中球及び汎マクロファージの浸潤が少なかった。また、PPAR β/δ 群では炎症性サイトカインであるinterleukin-1 β (IL-1 β)、interleukin-6(IL-6)、nuclear factor-kappa B (NF- κ B)のmRNA発現が抑制されており、PPAR β/δ 活性による抗炎症効果が示唆された。

抗炎症効果のメカニズムを調べるためにB-cell inhibitor, alpha (I- κ B α)の発現を調査した。NF- κ BはI- κ B α が結合している状態では非活性であるが、tumor necrosis factor alpha (TNF- α)、IL-1受容体などからのシグナル経路で、I- κ B α が分解されることで、NF- κ Bは細胞質から核内に移行し、遺伝子発現を誘導する。免疫染色およびリアルタイム Reverse

transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)では、いずれも PPAR β / δ 群の方が I-kBaの発現が多く、I-kBaの分解抑制による NF-kB の核内移行阻害が抗炎症メカニズムの一つとして考えられた。

次にマクロファージの局在を調査した。マクロファージは M1,M2 と大きく2つのフェノタイプに分かれ、M1 は炎症誘発、殺菌、貪食作用を持つ一方、M2 マクロファージは抗炎症、基質産生、血管新生、創傷治癒の役割をもち、フェノタイプにより異なる作用を示す。

CD68 antibody(ED-1)、CD163 antibody(ED-2)を用いて免疫染色を行った。ED-1、ED-2 染色はそれぞれ汎マクロファージ、M2 マクロファージを染色する。ED-1 染色陽性細胞は PPAR β / δ 群で多かったのに対して、ED-2 染色陽性細胞は基剤群で多く、PPAR β / δ 活性によりマクロファージの浸潤を抑制する一方、M2 マクロファージの局在が増加したことが示唆された。リアルタイム RT-PCR では PPAR β / δ M1 マクロファージのマーカである inducible nitric oxide synthase (iNOS)と TNF- α の mRNA 発現増加、M2 マクロファージのマーカである arginase 1 (Arg-1) と mannose receptor (CD206) の発現減少を認め、免疫染色の結果を支持した。以上より PPAR β / δ がマクロファージの局在を調整する可能性が示唆された。

さらに、Nestin 染色、Aminopeptidase P(JG12)染色にて新生血管に伴う血管内皮細胞を染色し調査したところ、PPAR β / δ 群で血管新生の増強が認められた。VEGF-A の mRNA 発現に関しても PPAR β / δ で発現が増加しており、PPAR β / δ 活性による血管新生促進効果が

示唆された。この結果を踏まえ、正常角膜へ PPAR β / δ アゴニストを 7 日間投与したが、新生血管の出現はなかった。PPAR β / δ 活性による血管新生誘導には炎症を必要とする可能性が考えられた。

PPAR β / δ アゴニストは角膜創傷治癒過程において炎症を抑制する一方、血管新生を促進させた。ただし、正常角膜に PPAR β / δ アゴニストを投与しても、血管新生は促進しなかった。PPAR β / δ の眼科分野での役割はまだ未知の点が多く、今後さらなる研究が必要である。