

（様式4）

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

関口 明子 印

（学位論文のタイトル）

**Inhibitory effect of kaempferol on skin fibrosis in systemic sclerosis
by the suppression of oxidative stress.**

（全身性強皮症の皮膚硬化に対する酸化ストレス制御を介した
ケンフェロールの抑制的効果について）

（学位論文の要旨）2,000字程度、A4判

全身性強皮症は、皮膚および内臓の線維化、血管障害、免疫異常を特徴とする発症機序不明の全身性疾患である。皮膚線維化には、真皮内に存在する線維芽細胞からの過剰な膠原線維の産生が関与している。その機序の一つとして、血管障害による低酸素が誘導する酸化ストレスが関与することが示唆されている。例えば、活性酸素の産生を調節するNOXの阻害剤や、酸化ストレスを改善させる薬剤(エダラボン)がマウス皮膚線維化モデルを改善することや、強皮症線維芽細胞ではNOX4と活性酸素の発現が亢進していることが報告されている。また、免疫機能異常（浸潤細胞から産生されるTGF- β 等のサイトカイン産生）など様々な機序も線維化に関与していることが想定されている。このように、酸化ストレスを抑制することが強皮症の線維化治療につながる可能性が示唆されている。

我々は、酸化ストレスを制御する因子として、フラボノイドの一種であるケンフェロールに着目した。フラボノイドは、主に植物に含まれるポリフェノール化合物であり、私たちの健康維持に重要な役割を果たしている。ケンフェロール（3,4', 5,7-テトラヒドロキシフラボン）は、茶葉、ブロッコリー、リンゴ、イチゴ、豆などに豊富に含まれる天然のフラボノイドであり、優れた抗酸化作用を有するほか、抗炎症作用や抗腫瘍作用など幅広い有益な薬理作用を持つことが知られている。しかし、強皮症の皮膚線維化に対するケンフェロールの作用については検討されていない。我々は、ケンフェロールが酸化ストレスを抑制することにより、強皮症における皮膚線維化を改善させる可能性があるのではないかという仮説を想定した。そこで本研究では、ブレオマイシン誘導皮膚線維化マウスモデルを用いて、皮膚線維化に対するケンフェロールの効果及び、酸化ストレスと炎症の抑制効果について検討した。

ブレオマイシン誘導皮膚線維化マウスモデルにおいて、ケンフェロールの腹腔内投与により皮膚線維化が有意に抑制された。また、ブレオマイシン誘導線維化皮膚では結合組織成長因子であるCTGFが高発現しており、ケンフェロールにより抑制されることを明らかにした。病変皮膚の α SMA⁺筋線維芽細胞の数はケンフェロール投与により有意に減少した。これらの結果より、ケンフェロールがブレオマイシン誘導皮膚線維化を抑制する効果を有する可能性が示唆された。

次に、酸化ストレス可視化マウス(OKD48トランスジェニックマウス)を用いて生体内での酸化

ストレスについて検討を行った。皮膚線維化部位では強い酸化ストレスが生じ、それらはケンフェロール投与により抑制されることを明らかにした。また、ケンフェロールは、線維化部位で増加したアポトーシス細胞数を減少させた。さらに、強皮症由来線維芽細胞において、ケンフェロールは過酸化水素刺激により誘導された活性酸素種(ROS)産生及びアポトーシスを抑制した。これらの結果より、*in vivo*・*in vitro* において、ケンフェロールは酸化ストレスや、引き続き生じるアポトーシスを抑制する可能性が示唆された。

ブレオマイシン誘導皮膚線維化モデルマウスは、強皮症患者における炎症の状態も模していることが知られている。一方、ケンフェロールは抗酸化作用だけでなく、抗炎症作用も有することが知られている。そこで、次に我々は、ブレオマイシン誘導線維化モデルマウスにおける炎症関連因子に対するケンフェロールの影響を検討した。皮膚線維化部位ではCD3⁺T細胞やCD68⁺マクロファージの数が増加し、IL-6、TNF- α 、TGF- β などといった炎症や線維化を誘導するサイトカインの発現量が増加していたが、それらはケンフェロール投与によって有意に抑制された。これらの結果より、ケンフェロールは皮膚線維化部位において抗炎症作用を有する可能性が示唆された。

今回の検討により、ブレオマイシン誘導線維化モデルマウスの皮膚において、ケンフェロールは、低酸素によって増加したROS産生を抑制し、筋線維芽細胞、T細胞、マクロファージなどの炎症細胞浸潤や、IL-6、TGF- β 、TNF α などの炎症性・線維化誘導サイトカインの産生を抑制させることで、皮膚の線維化を改善させることが示唆された。ケンフェロールの投与が強皮症患者における皮膚線維症の治療に応用できる可能性が示唆された。