

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 七野 成之

本研究は肺線維症の病態制御において中心的な役割を果たしていると考えられている、肺マクロファージおよび肺線維芽細胞に焦点をあて、肺マクロファージによるシリカ誘導肺線維症の病態制御、及び組織常在肺線維芽細胞の活性化制御の分子機構とその肺線維症病態への影響に関して検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 肺マクロファージのサブセットのうち、肺泡マクロファージではなく、骨髄由来の炎症性単球と肺間質マクロファージがシリカ誘導肺線維症において持続的に増加することを、線維化肺より調整した単細胞懸濁液の、フローサイトメトリーを用いた1細胞レベルの解析を経時的に行うことにより見出した。

2. 骨髄由来の炎症性単球を遺伝的に欠失させるため、*Ccr2* ノックアウトマウス由来の骨髄細胞を、骨髄死が生じる用量の放射線照射を行った *Colla2-GFP* トランスジェニックマウスに移植することにより骨髄キメラマウスを作出した。野生型の骨髄キメラマウスでは結節性のシリカ線維化病変がもたらされるのに対し、*Ccr2* ノックアウト骨髄キメラマウスではシリカ線維化病変がびまん化することを見出し、骨髄由来の炎症性単球がシリカ誘導肺線維症における線維化病変のびまん化を抑制していることが示された。

3. シリカ誘導肺線維症モデルにおいて、*Ccr2* ノックアウト骨髄キメラマウスでは、野生型と比較してヒト肺線維症と相関する遺伝子発現変動が肺組織細胞において増強されることを、*CD45* の非血球細胞のマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により見出し、骨髄由来の炎症性単球がシリカ誘導線維化肺の非血球細胞における病的な遺伝子発現変動を抑制していることが示された。

4. 活性化組織常在肺線維芽細胞の分子制御機構を明らかとする為、ブレオマイシンおよびシリカ誘導肺線維症モデルの両者を用い、惹起、寛解、慢性の各過程について経時的に肺線維芽細胞を *Colla2-GFP* トランスジェニックマウス

及びセルソーターを用いて取得、3'SAGE 法によりトランスクリプトーム解析を実施した。トランスクリプトームデータのクラスタリング解析により、モデル非依存的に、線維症病態推移と相関して発現変動する遺伝子群が見出された。

5. 遺伝子群の共発現ネットワーク解析および転写因子結合モチーフ解析により、活性化線維芽細胞の遺伝子発現ネットワーク中における 90 個の「ハブ」転写因子が見出された。それら 90 個のハブ転写因子には、脂質代謝において中心的な役割を果たしている Sterol regulatory element binding protein-1(Srebfl)をはじめとする、脂質関連転写因子が数多く含まれていることが見出された。

6. Srebfl の肺線維芽細胞活性化および肺線維症病態に対する役割について、経気道的養子移入法やノックアウトマウスを用いて検証した所、Srebfl は活性化肺線維芽細胞の増殖、筋線維芽細胞マーカーの発現、線維症増悪因子の肺線維芽細胞における発現増強を広範に抑制し、線維症モデルにおけるコラーゲン沈着も抑制することが見出され、Srebfl は肺線維症病態、および肺線維芽細胞の病的な活性化において防御的な役割を果たしていることが示された。

7. さらに、Srebfl 経路の増強の、肺線維症治療への応用可能性を検討するため、Srebfl の発現を増強することが知られている liver X receptor(LXR)のアゴニストの治療的投与実験を行った。LXR アゴニストの投与により、肺線維芽細胞の活性化が抑制され、コラーゲン沈着も抑制されることが、ブレオマイシンおよびシリカ誘導肺線維症の両モデルにおいて見出され、肺線維症の線維芽細胞活性化ネットワークにおいて、LXR-Srebfl 経路は防御的ハブの一つとして働いていることが示された。

以上、本論文はマウス肺線維症モデルにおいて、骨髄由来の炎症性単球の防御的役割、肺線維芽細胞の転写制御ネットワークにおけるハブ転写因子群、Srebfl の肺線維芽細胞の転写ネットワークにおける防御的ハブとしての役割を明らかとした。本研究はこれまで未知であった、肺マクロファージのシリカ誘導肺線維症における役割の理解、肺線維症における線維芽細胞活性化の分子制御機構の理解、肺線維症における脂質代謝経路の関与の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。