

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 相馬 邦彦

本研究は、ブレオマイシンとシリカ誘導肺線維症モデルマウスの肺線維芽細胞の中で変動したmiRNAを、網羅的解析により複数同定した。同定されたmiRNAを、初代培養肺線維芽細胞に過剰発現させ、*in vitro*と経気道的肺移植モデルで活性化を評価し、下記の結果を得ている。

1. 肺線維症モデルマウスの肺線維芽細胞に対してmiRNome解析を行い、ブレオマイシンとシリカ誘導モデルの両モデルにおいて、未処置群と比較して10倍以上に増加していた21個のmiRNA、day7の発現量が未処置群と比較して半分以下となっていた8個のmiRNAを同定した。21個のmiRNAの中にmmu-miR-20aが含まれており、定量的リアルタイムPCRによりmiR-20aの発現量の上昇を確認した。
2. オンラインソフトウェアを用いて*in silico*解析を行い、*TGF-β2*, *Hif1α*がmiR-20aのtarget遺伝子として予測された。miR-20aを過剰発現させた線維芽細胞では、empty vectorと比較して、*TGF-β2*抗体のMFIが低下していた。また、miR-20aとmiR-20a sensorベクターが遺伝子導入されたHEK293T細胞の方が、miR-20aとmutantベクターと比較して、renilla/firefly ルシフェラーゼの比が減少していた。そのことから、miR-20aが、*TGF-β2*遺伝子の3'UTRの相補的な配列依存的に、*TGF-β2*の発現を減少させることが示唆された。
3. miR-20aをウイルスによって過剰発現させた初代培養肺線維芽細胞では、*in vitro*のTGF-β刺激下で、線維芽細胞の*Acta2*, *Colla2*の発現量が低下していた。また、miR-20aを過剰発現させた線維芽細胞をブレオマイシン誘導モデルに移植させたIT-transferモデルにおいても、*in vitro*と同様の結果を得られた。
4. miR-20aが、肺線維症モデルの線維芽細胞にもたらず遺伝子発現変動を網羅的に解析したところ、*Acta2*やコラーゲンだけでなく、*Adam12*, *Ctgf*などの線維化関連遺伝子の発現量が減少していた。また、定量的リアルタイムPCRにおいてもそれらの遺伝子の発現量の低下を確認した。

以上、本論文は、mmu-miR-20aが線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を抑え、コラーゲンなどの細胞外器質の産生を低下させることを明らかにした。本研究は、mmu-miR-20aが肺線維症モデルマウスにおいて重要な役割を果たすことを解明し、学位の授与に値するものと考えられる。