

アクチン結合タンパク質drebrinの線維化に与える影響の解析

廣中, 貴則

<https://hdl.handle.net/2324/6787547>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (創薬科学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名	廣中 貴則		
論 文 名	アクチン結合タンパク質 drebrin の線維化に与える影響の解析		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 津田 誠
	副 査	九州大学	教授 田中 嘉孝
	副 査	九州大学	教授 小柳 悟
	副 査	九州大学	教授 松永 直哉

論文審査の結果の要旨

令和 5 年 1 月 30 日 (月) に主査および副査の計 4 名で廣中貴則氏の論文審査を行った。本論文では、アクチン結合タンパク質 **drebrin** の線維化に与える影響の解析に関する研究を行った。

線維化とは組織にコラーゲン等の細胞外マトリックスタンパク質が過剰に蓄積された状態である。線維化した組織は、可塑性を失うことで、最終的には機能不全へと導かれる。例えば、心筋梗塞により線維化した心臓は心不全へと、特発性肺線維症により線維化した肺は重篤な呼吸器障害へと、非アルコール性脂肪肝炎により線維化した肝臓は、肝硬変や肝がんへと繋がる。このように、線維化は死に直結する疾患に密接に関与しているため、線維化に対する治療薬の開発が早期に望まれている。

線維化を実行する細胞は、通常の組織に存在せず、線維化した組織にのみ出現し、過剰な細胞外マトリックスタンパク質を産生する筋線維芽細胞という細胞群である。筋線維芽細胞は炎症時に血球系細胞により分泌される TGF- β を代表するサイトカイン刺激を受けて、線維芽細胞をはじめとする様々な細胞が分化することで生じる。筋線維芽細胞はその主たる特徴の一つとして、アクチン骨格が発達していることが挙げられる。しかしながら、その発達したアクチン骨格形成のメカニズムは未だ不明な点が多い。今回、私は正常時の心臓にはほとんど発現せず、線維化した心臓において発現が大きく増加するアクチン結合タンパク質として、**drebrin** を同定した。そこで、本研究では、**drebrin** の線維化における機能を解明することを目的とした。

最初に、**drebrin** の発現細胞を同定するために、偽処置あるいは心筋梗塞処置後 3、7 日目の心臓の間質細胞の scRNA-Seq 解析を行った。その結果、**drebrin** は筋線維芽細胞を含む線維芽細胞に特異的に発現することを見出した。さらに心臓の間質細胞以外の実質細胞である心筋細胞に **drebrin** が発現するかを、高感度 *In situ* hybridization により検討したところ、**drebrin** は心筋細胞には発現していなかった。次に、**drebrin** の線維化に与える影響について解析を行った。線維化した心臓から筋線維芽細胞を単離し、**drebrin** をノックダウンして線維化関連因子の発現量を測定した結果、コラーゲンなどの線維化関連因子の産生が有意に抑制された。以上の結果から、**drebrin** は心臓の筋線維芽細胞において、線維化関連因子の産生を促進することが明らかとなった。

次に、**drebrin** の線維化促進メカニズムを解析するために、偽処置あるいは心筋梗塞処置後 3、7 日目の心臓から単離した筋線維芽細胞を含む線維芽細胞(Pdgfra+, Cd31-)の scRNA-Seq 解析を行った。線維芽細胞を **drebrin** 陰性、陽性に分け、**drebrin** 陽性群に豊富な分子を解析したところ、アクチン骨格形成に関与する分子が多く認められた。実際に、心臓の筋線維芽細胞において、**drebrin** をノックダウンし、RNA-Seq 解析を行ったところ、接着班やアクチン骨格制御などに関

与する多くの分子の発現減少が認められた。そこで、私は **drebrin** がアクチン骨格形成に関与するシグナルとして知られる **MRTF-SRF** シグナルに及ぼす影響について解析した。**MRTF-SRF** シグナルを特異的に検出する **SRF-RE Luc** レポーターを用いたルシフェラーゼアッセイや筋線維芽細胞における **anti-MRTF** 抗体による免疫染色を行ったところ、**drebrin** が **MRTF-SRF** シグナルを促進する分子であることが初めて明らかになった。

drebrin の線維化促進メカニズムをさらに解析するために、**drebrin** により制御される線維化促進分子の同定を試みた。**scRNA-Seq** や **RNA-Seq** を用いた網羅的探索により、私は線維化促進分泌タンパク質として知られる **Cthrc1** が **drebrin** により制御される可能性を見出した。さらに興味深いことに、**Cthrc1** の発現量は **drebrin** が促進する **MRTF-SRF** シグナルにより誘導されることを見出した。

最後に、**drebrin** の筋線維芽細胞のアクチン骨格形成を介した **Cthrc1** の発現と線維化関連因子産生が他の組織の線維化病態においても認められるかについて検討した。その結果、ブレオマイシンによる肺の線維化あるいは非アルコール性脂肪性肝炎による肝臓の線維化のいずれにおいても、**drebrin** は線維化時に発現増加し、筋線維芽細胞のアクチン骨格制御を介して、**Cthrc1** と線維化関連因子の発現促進に寄与することを見出した。

本研究成果により、**drebrin** は様々な臓器の線維化時に筋線維芽細胞において発現増加し、線維化を促進することを初めて明らかにした。さらに、その線維化促進メカニズムとして、**drebrin** はアクチン骨格形成に関与する **MRTF-SRF** シグナルを促進することで、線維化促進因子である **Cthrc1** の発現増加に寄与していることを見出した。本研究成果は、未だに不明な点が多く存在する筋線維芽細胞のアクチン骨格形成を介した線維化の増悪に **drebrin** が関与していることを示した新しい知見である。

これらのことから、申請者は博士（創薬科学）の学位を取得するにふさわしいと判断した。