

慢性炎症期の線維化組織に発現する分子の機能解析

山内, 佑斗

<https://hdl.handle.net/2324/7363737>

出版情報 : Kyushu University, 2024, 博士 (創薬科学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)



氏 名	山内 佑斗		
論 文 名	慢性炎症期の線維化組織に発現する分子の機能解析		
論文調査委員	主 査	九州大学	教 授 田中 嘉孝
	副 査	九州大学医学研究院	教 授 上住 聡芳
	副 査	九州大学	准教授 高露 雄太
	副 査	九州大学	講 師 濱村 賢吾

論文審査の結果の要旨

令和 7 年 2 月 3 日（月）に主査および副査の計 4 名で山内佑斗氏の論文審査を行った。本論文では、慢性炎症期の線維化組織に発現する分子の機能解析を行った。

線維化は、筋線維芽細胞によって産生されるコラーゲンなどの細胞外マトリックス（ECM）タンパク質の蓄積により発症する。線維化は急性炎症時の組織においては創傷治癒の役割を持つため有益な生体応答である。ところが、組織に炎症が慢性的に持続すると線維化が過剰に引き起こされ、組織は硬化し、機能不全に陥る。線維化は慢性心不全や代謝不全関連脂肪肝炎（MASH）などといった様々な組織の疾患に関与するが、その発症メカニズムには未だ不明な点が多く、有効な治療薬はほとんど存在しない。

線維化の実行細胞である筋線維芽細胞は、病態時の炎症を契機として TGF- β などのサイトカインの刺激により、常在性の線維芽細胞から分化する。これまで筋線維芽細胞は最終分化型と考えられていた。しかしながら最近、心筋梗塞後の慢性炎症とそれに伴う線維化が進行すると、筋線維芽細胞が種々のコラーゲンのみならず、軟骨細胞マーカー遺伝子である **Comp** や **Fmod** を発現するようになり、さらに分化する可能性が報告された（軟骨様筋線維芽細胞）。しかしながら、軟骨様筋線維芽細胞の特徴や ECM 産生メカニズムには不明な点が多い。今回、正常時の組織にほとんど発現せず、慢性期の線維化病態時に軟骨様筋線維芽細胞において発現が顕著に増加する分子として 2 種の分泌タンパク質を同定した。本研究ではこの 2 種の分子の軟骨様筋線維芽細胞における機能を明らかにすることを目的とした。

MASH を誘導した線維化肝臓において *in situ hybridization* を行ったところ、分子量約 40KDa の機能未知の分泌タンパク質は軟骨様筋線維芽細胞に特異的に発現していることが明らかになった。次に軟骨様筋線維芽細胞における機能を検討するために、その分子の **KO** マウスを作成した。この **KO** マウスに MASH を誘導したところ、野生型マウスの場合と比較して **KO** マウスの肝臓ではコラーゲンなどの線維化関連因子の発現量が有意に減少した。この結果に対応し、**KO** マウスにおいては、MASH 誘導による血中 AST、ALT 値の上昇が野生型マウスの場合に比べて有意に減少していた。これらのことから、着目する分泌タンパク質は肝臓の軟骨様筋線維芽細胞において、線維化関連因子の産生を促進し、肝機能を悪化させることを見出した。

さらに、着目する分泌タンパク質の線維化促進メカニズムを解明するために、線維化肝臓から単離した筋線維芽細胞においてこの分子をノックダウンし、リン酸化プロテオミクス解析を行った。その結果、この分泌タンパク質が **FOXO3** の 252 番目のセリンのリン酸化を促進する可能性を見出した。そこで、**KO** マウスの線維化肝臓から筋線維芽細胞を単離し調べたところ、**FOXO3** の 252 番目のセリンのリン酸化量が有意に減少していた。さらに、肝臓の筋線維芽細胞においてこの **FOXO3** のリン酸化は **SOX9** の発現量に依存することも明らかにした。興味深いことに、**KO** マウスの線維

化肝臓では SOX9 の発現が減少していた。これらの結果から着目する分泌タンパク質は SOX9 の発現を促進することで FOXO3 のリン酸化を活性化し、コラーゲン産生を促進すると考えられた。

PRELP は軟骨細胞に高発現し、コラーゲンと結合することが知られている。しかしながら PRELP の線維化への関与はほとんど明らかになっていない。心筋梗塞処置を施して線維化したマウス心臓および、MASH 誘導した線維化マウス肝臓において in situ hybridization を行ったところ、PRELP は FMOD 陽性かつコラーゲン強陽性の軟骨様筋線維芽細胞に特異的に高発現していることが明らかになった。

さらに、PRELP の軟骨様筋線維芽細胞における役割を明らかにするため、線維化した心臓と肝臓から軟骨様筋線維芽細胞をそれぞれ単離し、PRELP をノックダウンした。その結果、コラーゲン等の線維化関連因子の発現量が有意に減少した。これらのことから、PRELP は軟骨様筋線維芽細胞において線維化関連因子の発現量を促進することで、心臓と肝臓の線維化を促進すると考えられた。

最後に、軟骨様筋線維芽細胞における PRELP の発現誘導メカニズムを検討した。肝臓の軟骨様筋線維芽細胞において軟骨に特徴的な転写因子である SOX9 をノックダウンしたところ、PRELP の発現量は有意に減少した。さらに、肋骨の軟骨細胞における SOX9 の ChIP-seq のデータセットを解析したところ、SOX9 は PRELP のプロモーター領域に結合することが明らかとなった。これらの結果から、軟骨様筋線維芽細胞において PRELP の発現は SOX9 によって制御されていると考えられた。

本研究結果により、2 種の分泌タンパク質が心臓および肝臓の軟骨様筋線維芽細胞に特異的に発現し、線維化を促進することを初めて見出した。これら分泌タンパク質を標的とした線維化の革新的治療法の開発が期待される。

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。