

論文内容の要旨

Exosome-derived *microRNA-22* ameliorates pulmonary fibrosis by regulating fibroblast-to-myofibroblast differentiation both *in vitro* and *in vivo*

エクソソーム由来 *microRNA-22* は肺線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化抑制により肺線維化を抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野

大学院生 久世 眞之

Journal of Nippon Medical School 第 87 巻第 3 号(2020) 掲載予定

## 【背景】

特発性肺線維症の肺線維化病態形成において、肺線維芽細胞の異常な活性化と増殖は重要なメカニズムのひとつと考えられている。エクソソームは mRNA や microRNA (miRNA) などの核酸物質を内包した細胞外小胞であるが、近年エクソソームを介して放出される miRNA がさまざまな病態の形成へ関与する事が報告されている。肺線維化病態形成過程においても多数の miRNA の関与が報告されているが、エクソソーム由来 miRNA と、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化との関連については十分に解明されていない。

## 【目的】

肺線維化病態形成に関与するエクソソーム由来 miRNA を特定し、特発性肺線維症の新規治療戦略構築に資することを目的とした。

## 【方法】

ブレオマイシン (bleomycin; BLM) 誘発肺線維症を示す C57BL/6 マウスの血清よりエクソソームを単離し miRNA を抽出、miRNA アレイにより網羅的発現解析を行った。miRNA アレイにて見出した候補 miRNA の発現検証を行った後、候補 miRNA に関してヒト肺線維芽細胞 (HFL-1) における線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化に与える影響を検討した。さらに同 miRNA の線維化抑制効果を BLM 誘発肺線維症モデルマウスを用いて検討した。

## 【結果】

C57BL/6 マウスにて BLM 誘発肺線維症モデルを作成した。BLM 投与前、BLM 投与後 7 日目、14 日目、21 日目、28 日目の血清からエクソソームを単離し miRNA を抽出した。miRNA アレイ解析により、BLM 投与後 14 日目に発現が上昇している *miR-22* を解析対象とした。*miR-22* 発現の発現検証にて約 2 倍の増加が認められた。*In vitro* において *miR-22* の肺線維芽細胞への過剰発現により、TGF- $\beta$ 1 刺激による  $\alpha$ -SMA 発現が抑制されることを western blotting ならびに免疫染色により確認した。さらに、*miR-22* が TGF- $\beta$ 1 刺激による ERK1 / 2 経路の活性化を阻害することを p-ERK1/2 の western blotting で確認した。また、connective tissue growth factor (CTGF) は  $\alpha$ -SMA 発現に関与する事が報告されているが、TGF- $\beta$ 1 刺激による  $\alpha$ -SMA の発現を CTGF に対する siRNA が抑制する事を確認した。この CTGF 発現は、TGF- $\beta$ 1 刺激下で、*miR-22* により抑制される事を real time PCR 法で確認した。さらに BLM 誘発肺線維症モデルマウスにおいて *miR-22* を BLM 投与後 10 日目に尾静脈より単回投与した所、マウス肺の  $\alpha$ -SMA 発現の減少を伴う線維化病変の改善を確認することができ、*miR-22* の肺線維化病態形成抑制への関与が示唆された。

## 【考察】

特発性肺線維症は予後不良の疾患であり、努力肺活量の経年低下抑制効果を有する既存の抗線維化薬のみでは十分ではないのが現状である。本研究において、エクソソーム由来の *miR-22* が肺線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を抑制する事を介して肺線維化病態形成を抑制することを見出した。

**【結語】**

*miR-22* は線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を抑制する可能性があり、特発性肺線維症患者における、新規治療戦略の標的となる事が期待される。