

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

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 呼吸器感染腫瘍内科学分野
大学院生 久世 眞之

Journal of Nippon Medical School (2019 年) 掲載

DOI: 10.1272/jnms.JNMS.2020_87-302

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な治療効果は得られていない。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り、エクソソーム由来 miRNA の様々な病態へ関与が近年報告されている。肺線維化病態形成過程においても複数の 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。今回申請者らは、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の構築を目的に検討を行った。

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て miRNA を抽出し、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 発現を検証後、候補 miRNA に関して BLM 誘発肺線維症モデルマウスを用いて、ヒト肺線維芽細胞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および miRNA の線維化抑制効果を検討した。

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て miRNA を抽出した。miRNA アレイ解析により、BLM 投与後 14 日目に約 2 倍発現が上昇している miR-22 を解析対象とした。In vitro において、miR-22 の肺線維芽細胞 (HFL-1) への過剰発現にて、TGF- β 1 刺激による α -SMA 発現を有意に抑制し、ERK1/2 経路活性化阻害を示した。 α -SMA 発現に関与する connective tissue growth factor (CTGF) においては、CTGF に対する siRNA および

miR-22 が TGF- β 1 刺激による α -SMA 発現を有意に抑制した。BLM 誘発肺線維症モデルマウスにおいては、BLM 投与後 10 日目の miR-22 の尾静脈からの単回投与にて、マウス肺の α -SMA 発現減少を伴う線維化病変の改善を認めた。以上、エクソソーム由来 miR-22 が、肺線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化抑制を介して肺線維化病態形成を抑制することを明らかにした。miR-22 は、特発性肺線維症患者における新規治療標的になり得る可能性が示された。

第二次審査では、BLM 投与 14 日目の miRNA に注目した理由、ERK 下流シグナルの検討、肺線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化以外の線維化機序への関与、肺線維症急性増悪における miR-22 の関与、ピルフェニドンなどの既存抗線維化薬と miR-22 の関係、miR-22 を標的とした新規治療法の可能性などに関する幅広い質疑が行われ、いずれも的確な回答が得られた。本研究は、肺線維症の新規治療戦略構築に繋がる意義ある論文と考えられた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。