

成果報告書〈概要〉

施設・所属: カナダ McMaster 大学 Firestone 呼吸器研究所 氏名 佐藤正大

1. 概要の構成は自由ですが、留学の成果報告として広報資料に掲載されます点をご留意ください。
2. 研究目的、研究手法、研究成果など、一般の方にもわかりやすくしてください。
3. A4 1 ページでまとめてください。(図表、写真などの添付を含む 日本語)

【背景】 microRNA (miRNA) は 18-22 塩基程度の小分子 RNA の一種であり、細胞内で mRNA と結合してその転写を制御することが知られている。エクソソームは内部に miRNA のような核酸物質を含む細胞外小胞体であり、細胞間の情報伝達において重要な因子として近年研究が進められている。Fibrocyte は、骨髄単球由来の細胞であり、傷害肺へ遊走した後、様々なパラクライン因子を分泌することで肺の線維化に促進的に働くと考えられている。miR-21 は代表的な線維化促進性 miRNA の一つであるが、fibrocyte が分泌する miR-21 が、肺の線維化に与える影響については過去に報告がない。本研究において我々は、fibrocyte 由来の miR-21 を内包するエクソソームが肺内線維芽細胞に与える影響と、線維化肺における硬化した肺組織や変化した細胞外基質が、fibrocyte が分泌する miR-21 の発現量に与える影響について検討した。

【方法】 Active TGF- β 1 をエンコードしたアデノウィルスベクター(AdTGF β 1)、あるいはコントロールベクター(AdDL)を経気管支投与することで、ラット肺に線維化を惹起した。ラット肺より fibrocyte 及び線維芽細胞を初代培養した後、anti-CD45 磁気ビーズを用いて両細胞を分離した。または、健康人の末梢血内単核球より、フィブロネクチンコートディッシュを用いてヒト fibrocyte を単離した。それぞれの細胞上清より、超遠心法と Total exosome isolation reagent (Thermo Fisher 社) を組み合わせた方法でエクソソームを単離した。脱細胞化されたラット肺を fibrocyte で再細胞化し、培養した(Fig.2A)。脱細胞化されたラット肺より抽出された細胞外基質蛋白を fibrocyte に添加して培養した。以上のような操作を fibrocyte に加えた後、miR-21 の細胞内発現及びエクソソーム内発現を比較検討した。

【結果】 線維化肺より単離されたラット fibrocyte 由来のエクソソームを線維芽細胞に添加したところ、コントロール肺由来 fibrocyte のエクソソームを用いた場合と比較して、線維芽細胞の collagen type I の発現が優位に上昇した。線維化肺より単離した fibrocyte は、miR-21 を高発現していた(Fig.1)。脱細胞化された線維化肺内において fibrocyte を培養したところ、脱細胞化されたコントロール肺内で培養した場合と比べて、fibrocyte の miR-21 発現は優位に上昇した(Fig.2B)。線維化肺より抽出した細胞外基質蛋白は、コントロール肺から抽出した細胞外基質蛋白と比較して fibrocyte の miR-21 発現を細胞内発現レベル、エクソソーム内発現レベルの両方において上昇させた(Fig.3)。これらの結果は、ラット fibrocyte、ヒト fibrocyte の両方において同じ傾向が認められた。

【結論】 本研究成果により、線維化肺内に浸潤した fibrocyte は、硬化した肺組織や変化した細胞外基質によって多量の線維化促進性 miRNA を分泌するように性質を変化させ、隣接する線維芽細胞の細胞外基質産生を促すことで線維化を促進させるという、fibrocyte を介した肺線維症の新たなメカニズムを提唱できる可能性がある。

Fig.1

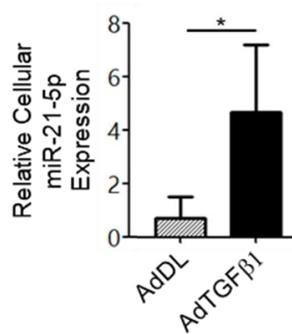


Fig.2

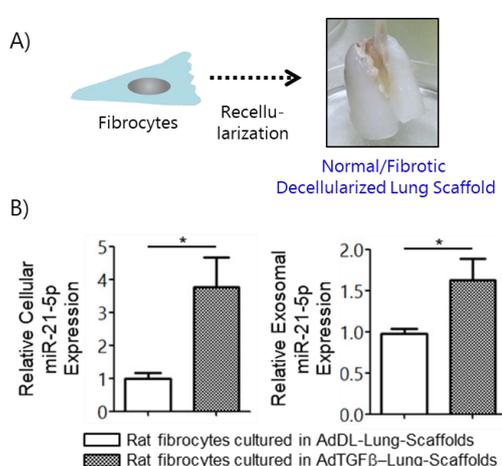


Fig.3

