



## CD109 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting TGF- $\beta$ signaling

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2024-03-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 直井, 兵伍 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/0002000120">http://hdl.handle.net/10271/0002000120</a>

博士（医学）直井 兵伍

論文題目

CD109 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting TGF- $\beta$  signaling  
(CD109 分子は TGF- $\beta$  シグナルを阻害することによってブレオマイシンによる肺線維化を減弱させる)

論文の内容の要旨

[はじめに]

肺線維化は線維芽細胞の活性化と筋線維芽細胞の増殖によって、膠原線維が増生して引き起こされる致死的な病態である。Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は肺線維化の形成において中心的な役割を担う。そのため、TGF- $\beta$  シグナルの制御は肺線維化の有望な治療戦略として期待されてきた。しかし、今日まで、TGF- $\beta$  を標的とした治療は十分な効果を示せていない。

CD109 分子はグリコシルホスファチジルイノシトールアンカー型糖タンパク質であり、TGF- $\beta$  レセプター I と結合することによって TGF- $\beta$  シグナルを負に制御する。しかし、肺線維化における CD109 分子の役割、治療標的としての可能性について検証した研究はない。そこで、ブレオマイシンによる肺臓炎モデルマウスを用いて、肺線維化における CD109 分子の役割と治療標的としての可能性について検討した。

[材料ならびに方法]

野生型マウス、CD109 分子を高発現させた CD109 トランスジェニック (*CD109-Tg*) マウス、CD109 分子を欠損させた (*CD109<sup>-/-</sup>*) マウスを用いた。それぞれのマウスにブレオマイシンを経気管投与し、肺臓炎モデルマウスを作成した。生存および体重の経時的な評価を行った。21 日目に肺機能を計測し、病理学的検討、コラーゲン量の定量評価を行った。

次に、ブレオマイシンで肺臓炎を惹起させた *CD109-Tg* マウス、野生型マウスの肺線維芽細胞をフローサイトメトリーで単離して、その数、*Acta2* のメッセンジャーRNA 発現量、alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) と p-Smad2 のタンパク質発現について検証した。

さらに CD109 分子が肺線維化の治療標的となりえるかを探索するため、リコンビナント CD109 タンパク質 (rm-CD109) を用いた実験を行った。*In vitro* 実験として、rm-CD109 と TGF- $\beta$  を、TGF- $\beta$  レポーター遺伝子が挿入された HEK293 細胞 (ヒト胎児腎由来の細胞株) に投与して、TGF- $\beta$  シグナルの活性化により産生される分泌型アルカリホスファターゼ (SEAP) 発現量を評価した。また、MRC-5 細胞 (ヒト胎児肺由来の線維芽細胞様の細胞株) にも rm-CD109 と TGF- $\beta$  を投与し、*ACTA2* のメッセンジャーRNA 発現量を評価した。*In vivo* 実験として、野生型マウスにブレオマイシンで肺臓炎を惹起させたのちに rm-CD109 を経鼻投

与して、肺線維化に対する作用を検証した。

本実験は、浜松医科大学動物実験委員会の承認（承認番号：2017042）と組み換え DNA 実験安全委員会の承認（承認番号：29-20）を得て行われた。

#### [結果]

*CD109-Tg* マウスでは野生型マウスと比較して、生存率が有意に高く、体重減少も軽減されることを見出した。また、*CD109-Tg* マウスでは肺のコンプライアンスが保たれ、肺の病理組織におけるアシクロフトスコアは有意に低く、肺ヒドロキシプロリン量も低値であった。これらの結果は、ブレオマイシン肺臓炎モデルでは、*CD109-Tg* マウスの肺線維化が軽減されることを示すものであった。一方で、*CD109<sup>-/-</sup>* マウスは野生型マウスと比較して、生存、体重、肺機能、病理組織、ヒドロキシプロリン量いずれも有意な違いは見られなかった。

*CD109-Tg* マウスで肺線維化が軽減される機序を検証するため、*CD109-Tg* マウス肺の線維芽細胞と筋線維芽細胞について検討した。*CD109-Tg* マウス肺では野生型マウス肺と比較して、線維芽細胞、筋線維芽細胞は有意に低値であった。さらに、*CD109-Tg* マウスの肺線維芽細胞では *Acta2*、 $\alpha$ SMA、p-Smad2 の発現が有意に低下していた。

*In vitro* 実験として、*rm-CD109* を TGF- $\beta$  レポーター遺伝子が挿入された HEK293 細胞に投与すると、SEAP 発現量は低下し、*rm-CD109* が TGF- $\beta$  シグナルを抑制することを確認した。また、*rm-CD109* を MRC-5 細胞に投与すると、*ACTA2* のメッセンジャーRNA 発現が抑制された。

*In vivo* 実験において、*rm-CD109* を投与されたマウスでは体重減少が抑えられ、肺のコンプライアンスも有意に改善していた。また、肺組織のアシクロフトスコアが低く、肺ヒドロキシプロリン量も有意に低値であった。

#### [考察]

*CD109-Tg* マウスを用いた実験から、*CD109* 分子は肺線維化の過程で線維芽細胞に作用して、肺線維化を抑制すると考えられた。また *in vitro* 実験から、*CD109* 分子は TGF- $\beta$  シグナルを阻害することにより、肺線維芽細胞がコラーゲン産生能の高い筋線維芽細胞への形質転換を抑制している可能性が考えられた。さらにマウス肺において *rm-CD109* 投与は肺線維化を抑制させることが示された。

肺の線維化をきたす疾患として、特発性肺線維症は頻度が高く、原因不明な上に慢性進行性の病態を示し、最も予後が不良な疾患として知られている。現在、臨床応用されている薬剤の治療効果は、疾患進行の抑制にとどまる。そのため、線維化病態を改善させるような画期的治療薬の開発が望まれている。本研究の結果から、*CD109* 分子の制御は、特発性肺線維症をはじめとした肺線維化を来す疾患に対する、有望な新規治療標的となりえると考えられた。

#### [結論]

*CD109* 分子が肺線維化において抑制的に働くことを明らかにした。*CD109* 分

子の制御は肺線維化を来す疾患に対する新たな治療標的となりえると考えられた。