

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08525

研究課題名(和文) TGF- 誘導性分子を標的とした新規肺線維症治療戦略の構築

研究課題名(英文) Novel pulmonary fibrosis therapeutic strategy targeting TGF-beta inducible gene

研究代表者

雷 小峰 (Lei, Xiao-Feng)

昭和大学・医学部・助教

研究者番号：00595069

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：線維化疾患は慢性炎症を伴って臓器実質細胞が損傷され、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの異常蓄積を特徴とする難治性疾患である。特に診断から短い生存期間が問題となる特発性肺線維症に対する有効な治療法は未だなく、治療薬の開発に向けた分子基盤の解明が必要とされている。我々は、肝線維化発症時に線維芽細胞活性化制御分子として H202-inducible Clone 5 (Hic-5, 別名TGF- β 1i1) を同定した。本研究では肺線維化における Hic-5 の機能に着目し解析を行った。その結果から、Hic-5 が肺線維症の新規創薬ターゲットとなり得る分子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線維化疾患は慢性炎症を伴って臓器実質細胞が損傷され、コラーゲンなどの細胞外マトリックスの異常蓄積を特徴とする難治性疾患である。診断から短い生存期間が問題となる特発性肺線維症に対する有効な治療法は乏しく、治療薬の開発に向けた分子基盤の解明が必要とされている。本研究では肺線維化における新規創薬ターゲット分子を見出し、積極的な線維化疾患創薬シーズの開発に必須の分子基盤の一端を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Fibrosis is an intractable disease characterized by damage to organ parenchymal cells accompanied by chronic inflammation and abnormal accumulation of extracellular matrix such as collagen. There is still no effective treatment for idiopathic pulmonary fibrosis, which is characterized by a short survival time from diagnosis, and the molecular basis for the development of therapeutic agents is still needed. We have identified H202-inducible clone 5 (Hic-5, also known as TGF- β 1i1) as a regulatory molecule of fibroblast activation during liver fibrosis. In this study, we focused on the function of Hic-5 in lung fibrosis. The results suggest that Hic-5 is a potential new drug target for pulmonary fibrosis.

研究分野：分子病理学

キーワード：肺線維症 細胞外マトリックス TGF- 接着斑分子

1. 研究開始当初の背景

臓器線維化は慢性炎症に伴った実質臓器細胞の損傷後に活性化した線維芽細胞が損傷部に集積し、I型コラーゲンなどの細胞外マトリックスを過剰に産生することによる疾患である。その過程では活性化した線維芽細胞が中心的役割を担っていることが明らかにされている。

様々な臓器線維症の中でも、慢性かつ高度な線維化が進行して不可逆性の蜂巣肺形成をきたす特発性肺線維症は診断から 2-3 年の生存期間と予後不良であり、病気の進行を根本的に治療する薬剤の開発が必要とされている。

2. 研究の目的

申請者らは活性酸素や TGF- β 1 により発現誘導される細胞接着斑アダプター分子 Hic-5 (hydrogen peroxide-inducible clone-5) が、肝線維化過程において肝星細胞の活性化を介して線維化を制御する重要な分子として機能することを発見した。さらに肺線維化過程においても Hic-5 がその発症制御に関わる事を見出した。そこで本研究では、Hic-5 の肺線維症発症への関与について検討し、積極的な新規肺線維化創薬シーズの開発に必須の分子基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

I. Hic-5 欠損によるマウス肺線維化発症抑制効果評価

野生型および Hic-5 欠損マウスに Bleomycin 投与による肺線維症モデルを作成し、肺線維化の進行度を評価した。また組織内の病態について炎症細胞、線維芽細胞マーカーを用いて調べた。さらに線維化発症時の TGF- β 上昇、活性酸素種の増加およびその下流でのコラーゲン産生が主因の一つとして知られていることから、病変組織切片と DCFH-DA を用いて組織内活性酸素産生量を、また免疫染色法やウエスタンブロットでコラーゲン量を検討した。

II. マウス/ヒト肺由来 Hic-5 欠損/抑制線維芽細胞を用いた活性化形質制御への関与

肺線維化における Hic-5 発現細胞は活性型線維芽細胞である可能性が予備的検討より得られたことから、マウス肺から線維芽細胞を分離培養した。活性型線維芽細胞が持つ形質として、型コラーゲンなどの ECM 産生能、炎症性サイトカイン産生能、細胞遊走能および増殖能の亢進が知られている。そこで Hic-5 欠損マウスより分離した肺線維芽細胞を用いて、上述の変化が見られるか RT-PCR, ウエスタンブロット, Boyden chamber assay や BrdU 取込みなどを用いて検討した。さらにヒト由来肺線維芽細胞および hic-5/siRNA を用い、活性型線維芽細胞形質の変化についても検討した。

4. 研究成果

I. Bleomycin 投与による肺線維症モデルにおいて、Hic-5 欠損マウスでは肺胞上皮細胞脱落および間質線維化が抑制された。さらに臓器内の線維化マーカータンパク質量を解析したところ、野生型マウスと比較し Hic-5 欠損マウスでは線維化マーカーである α -SMA およびコラーゲン量が減少していた。

II. マウスより肺線維芽細胞を単離培養し、野生型と Hic-5 欠損マウス由来の肺線維芽細胞を用いて活性型細胞形質に関して解析を行なった。Hic-5 欠損マウス由来の肺線維芽細胞では炎症生

サイトカイン刺激によるコラーゲン産生および細胞遊走能が低下していた。さらにヒト由来肺線維芽細胞および hic-5/siRNA を用いた解析からも、炎症性サイトカイン刺激によるコラーゲン産生低下が確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miyazaki Takuro, Taketomi Yoshitaka, Higashi Takayoshi, Ohtaki Hirokazu, Takaki Takashi, Ohnishi Koji, Hosonuma Masahiro, Kono Nozomu, Akasu Risako, Haraguchi Shogo, Kim-Kaneyama Joo-ri, Otsu Kinya, Arai Hiroyuki, Murakami Makoto, Miyazaki Akira	4. 巻 43
2. 論文標題 Hypercholesterolemic Dysregulation of Calpain in Lymphatic Endothelial Cells Interferes With Regulatory T-Cell Stability and Trafficking	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 e66-e82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/ATVBAHA.122.317781	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gao Lin, Lei Xiao-Feng, Miyauchi Aya, Noguchi Masahito, Omoto Tomokatsu, Haraguchi Shogo, Miyazaki Takuro, Miyazaki Akira, Kim-Kaneyama Joo-ri	4. 巻 10
2. 論文標題 Hic-5 is required for activation of pancreatic stellate cells and development of pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-76095-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Shuri Kaneyama, Xiao-Feng Lei, Aya Miyauchi, Masahito Noguchi, Akira Miyazaki
2. 発表標題 Hic-5 is required for activation of PSCs and development of pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis.
3. 学会等名 The Joint Congress of the 26th International Association of Pancreatology and the 53rd Annual Meeting of Japan Pancreas Society
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮内彩, 野口雅仁, 雷小峰, 田辺桃子, 宮崎章, 金山朱里
2. 発表標題 細胞接着斑メカニカルストレス応答性アダプター分子 Hic-5欠損による変形性膝関節症発症抑制
3. 学会等名 第35回日本軟骨代謝学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 雷 小峰, 小林 香映, 松原 花奈子, 見代 佳奈, 猪又 直子
2. 発表標題 低用量ビル内服を契機に発症した遺伝性血管性浮腫1型の1例
3. 学会等名 日本皮膚科学会東京支部第901回東京地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 雷 小峰, 小林香映, 辛 和樹, 佐々木大和, 石橋 智, 見代佳奈, 猪又直子
2. 発表標題 口腔底癌と高度るい瘦を伴い治療に苦慮した尋常性乾癬の1例
3. 学会等名 第37回日本乾癬学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 雷小峰, 佐々木大和, 岩橋ゆりこ, 岩立和子, 北島真理子, 荒木信之, 山内輝夫, 小林香映, 渡辺秀晃
2. 発表標題 頭部に生じた硬化性萎縮性苔癬の1例
3. 学会等名 第897回東京地方会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	金山 朱里 (Kaneyama Shuri) (10338535)	昭和大学・医学部・准教授 (32622)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------