



Title	Single-cell transcriptomic profiling of lung fibroblasts in a bleomycin-induced systemic sclerosis mouse model
Author(s)	前川, 亜耶
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101808
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	前川 亜耶
論文題名 Title	Single-cell transcriptomic profiling of lung fibroblasts in a bleomycin-induced systemic sclerosis mouse model (ブレオマイシン誘発性強皮症モデルマウスの肺における線維芽細胞に焦点を当てたシングルセル解析)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 全身性強皮症（以下SSc）は自己免疫異常・コラーゲン代謝障害・血管障害を特徴とする疾患で、皮膚硬化とレイノー現象を主徴として、食道・腸管・肺・腎臓に線維化を引き起こす疾患である。SScにおける肺線維症は予後不良因子の主な要因であり、病態解明と根治的治療の開発は極めて重要な課題である。SScでみられる線維化の病態には線維芽細胞が深く関与していることが知られており、今回の研究では強皮症モデルマウスを用いて肺線維症における線維芽細胞の役割解明と病態解明を試みた。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ＜方法＞ 強皮症モデルマウスとして一般的なブレオマイシン（以下BLM）誘発性強皮症モデルマウスを選んだ。また、線維芽細胞に着目するためにPDGFRα（Pα;線維芽細胞に多く発現する分子）ノックインマウスを用いて検討を行った。9週齢の♂マウスの背部に、疾患群として1mg/mlのブレオマイシン100ulを、コントロール群としてPBS100ulを4週間皮下注射した。皮下注射終了後の翌週に採取した肺のサンプルのPα陽性線維芽細胞に着目してSingle Cell RNA-sequence解析を行った。 ＜成績＞ 皮膚と肺のサンプルにおいて、Single Cell RNA-sequence解析を行った。皮膚組織においてはMacrophagesが主体になっており、単一細胞レベルにおいて非常に強い炎症が誘導されていることが確認できた。肺組織において、Single Cell RNA-sequence解析を進め、Pα陽性線維芽細胞のサブクラスター解析を行い、それぞれNpnt、Pi16、Ptprc1、Pecam1陽性の4つの亜集団を同定した。中でもNpntおよびPi16陽性群が主要な2集団となっており、この2つの亜集団に着目した。先行研究のマウス各組織から採取したPα陽性線維芽細胞のSingle Cell RNA-sequence解析結果では、Npntはネフロネクチンと呼ばれる遺伝子で、マウス肺に特異的に同定されており、Npnt陽性線維芽細胞は肺胞間質に、Pi16陽性線維芽細胞は外膜に存在することが明らかにされている。一般的にSScの肺線維症は肺胞萎縮により特徴付けられており、これらの肺胞を構成する線維芽細胞が肺の線維化に重要な役割を担っていることを確認した。 次にBLM投与が肺線維芽細胞に与える影響に関して検討したところ、UMAP上でBLM投与によりそれぞれの線維芽細胞の局在に変化を認め、線維芽細胞の質的変化を引き起こしていた。また、Differentially Expressed Genes (DEG)解析でNpnt陽性線維芽細胞とPi16陽性線維芽細胞において発現が亢進している遺伝子と低下している遺伝子を同定し、それらのDEGリストを元にgene ontology解析を行った。Npnt陽性群では細胞外マトリックス変化に関する遺伝子発現経路が、Pi16陽性群では細胞分裂やリボソーム生合成やウイルスへの反応といった細胞質内における反応に関する遺伝子発現経路が認められた。特にNpnt陽性線維芽細胞では、BLM投与群において線維化と関連のあるColla1やCol3a1, Fn1, Mmp2の遺伝子発現が高くなっており、BLM皮下投与がNpnt陽性肺胞線維芽細胞におけるコラーゲン産生を特異的に誘導することが分かった。最後に既報告のあるBLM気管内投与モデルと皮下投与モデル間で肺線維症のメカニズムの違いの検討を行った。皮下投与ではCol1a1, Col3a1, Fn1, Serpina3n, Tncの遺伝子において発現上昇が見られたが、気管内投与ではそれらに加えてCthrc1, Loxの遺伝子の発現が見られた。発現する遺伝子に差を認めたことから投与経路の異なる2種のマウスの肺線維症での線維化メカニズムの違いが予測された。 〔総括(Conclusion)〕 BLM誘発性SScモデルマウスにおける肺線維症では、線維芽細胞が密接に関わっており、BLM皮下投与によりNpnt陽性線維芽細胞とPi16陽性線維芽細胞に質的変化を引き起こした。特に、BLM皮下投与モデルマウスにおいてはNpnt陽性線維芽細胞が肺の線維化に重要な役割を担っていることが判明した。また、投与経路の異なる2種のBLM誘発性肺線維症モデルマウスにおいて、線維化のメカニズムの違いを明らかにしたことにより、今後のSScの病態解明に寄与することが期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 前川亜耶				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	藤本 孝	署名
	副 査	大阪大学教授	山本 浩一	署名
	副 査	大阪大学教授	松岡 悠美	署名

論文審査の結果の要旨

全身性強皮症（以下SSc）において肺線維症の合併は予後不良因子である。線維化の病態には線維芽細胞が関与し、強皮症モデルマウスとSingle Cell RNA-sequence解析を用いて肺線維症の線維芽細胞の役割解明を試みた。PDGFRα（Pα;線維芽細胞に多く発現する分子）陽性線維芽細胞の4つの亜集団に分類し、主な2集団のNpntおよびPi16陽性群を同定した。Npnt陽性線維芽細胞では、BLM投与群において線維化と関連のあるCol1a1やCol3a1, Fn1, Mmp2の遺伝子発現が高く、BLM皮下投与によりコラーゲン産生を特異的に誘導されていた。また、既報告のBLM気管内投与モデルと皮下投与モデル間で肺線維症に関して検討したところ、投与経路の異なる2種のマウス間で発現している遺伝子に違いがあることが判明し、肺線維症での線維化メカニズムの違いが予測された。Npntの役割やBLM投与経路の違いによるメカニズムの違いが明らかになったことは今後のSScの病態解明や治療法開発に寄与することが期待される点で学位論文に値すると認めた。