

Title	Tetraspanin CD151 protects against pulmonary fibrosis by maintaining epithelial integrity
Author(s)	辻野, 和之
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59727
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【15】

氏名	辻野和之
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25593 号
学位授与年月日	平成24年7月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Tetraspanin CD151 protects against pulmonary fibrosis by maintaining epithelial integrity (テトラスパニン CD151 は上皮の安定性を保つことで肺の線維化を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 関口 清俊 教授 目加田 英輔

論文内容の要旨

〔 目 的 〕 特発性肺線維症は胞隔炎として始まり、慢性炎症による肺領域の破壊を伴い間質の線維化へと進行する予後不良疾患である。詳細なメカニズムは不明で、有効な治療法も確立していない。近年、肺線維症発症に慢性的な肺胞上皮細胞の傷害が関与していることが明らかになってきた。しかしながら、この肺胞上皮細胞の傷害抑制に関わる分子に関しては、これまでほとんど分かっていない。テトラスパニンはCD9、CD81やCD151を含む細胞膜4回貫通蛋白ファミリーで、インテグリンやその他の膜蛋白と細胞膜にて複合体を形成することで接着、分化、アポトーシス、癌転移など様々な機能を修飾する。特にCD151は上皮細胞に強く発現しており、これまで上皮の形態保持や機能の維持に重要であることが示唆されてきたが、線維化との関連についてはほとんど検討されていない。一方で、CD151と強く会合するβ1インテグリンは、線維化形成への関与が示されてきた。そこで今回我々は、おもにノックアウト(KO)マウスを用いた解析を行い、CD151が肺の線維化へのどのように関与しているのかを検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、CD151KOマウスの肺に発現しているmRNAを、野生型マウスのそれと比較検討したところ、KOマウスの肺ではコラーゲン、エラスチン等の線維化関連遺伝子の発現が亢進していた。同様に、蛋白レベルにおいてもCD151KOマウスの肺内コラーゲンの増加が認められ、さらに呼吸機能検査においては肺コンプライアンスの低下を認めた。以上よりCD151が肺で欠損すると、肺に線維化がおこると考えられた。実際、ノックアウトマウスの肺の透過電子顕微鏡所見では、肺胞隔壁へのコラーゲンやエラスチンの沈着亢進が確認された。さらに肺胞上皮細胞内にはlamellar body様の分泌顆粒の過形成を認め、CD151が欠損すると肺胞上皮細胞に何らかの異常をきたすものと考えられた。またこれらの線維化所見は、若週零(10週零)よりも比較的高齢(30週零)マウスで顕著であり、CD151KOマウスでは年齢とともに肺の線維化が進行することが示唆された。次に、H-2K^b-tsA58トランスジェニックマウスの肺から単離した肺胞上皮細胞にてcell lineを作成し、siRNAにてCD151をノックダウン(KD)した細胞とコントロールの細胞とを比較検討した。CD151KD細胞では基底膜類似の細胞外器質成分であるマトリゲル上で接着能低下に伴う剥離の亢進が認められ、CD151は肺胞上皮が基底膜上で安定した接着を維持するのに必要であることが示唆された。この基底膜上での安定した接着は、上皮細胞の形態・機能の維持に不可欠と考えられ、実際CD151ノックダウン細胞は、マトリゲル上で培養すると形態学的に腫大し、α-SMAの強発現ならびにp-Smad2シグナルの増加等の異常を認めた。近年、これら肺胞上皮の異常や傷害が肺線維症発症の根底にあると考えられており、CD151KOマウスの線維化においてもこれらの変化が関与していると推察された。さらに、プレオマイシンの経気道投与により(肺胞上皮を直接傷害して)肺線維症を誘導したところ、CD151KOマウスでは肺胞上皮細胞の変性とそれに付随する著名な肺の線維化形成を認め、早期に死亡した。以上より、CD151が欠損すると肺胞上皮の不安定化をきたし、肺の線維化形成が促進されると考えられた。

最後に、ヒト肺線維症患者におけるCD151の発現を検討した。リアルタイムPCRにて肺線維症肺と健常肺でのCD151発現レベルを比較したが、両者に大きな差異は認めなかった。しかし、二重蛍光染色法にて肺胞上皮細胞におけるCD151発現を検討すると、肺線維症患者においてはCD151の発現が低下した肺胞上皮細胞が散見された。このことは、人においてもCD151発現低下が肺線維症発症に関わっていることを示唆するものと考えられる。

〔 総 括 〕

我々の研究結果は、CD151が肺で欠損すると肺胞上皮細胞に異常をきたし、肺の線維化が形成されることを示唆する。また線維化形成は、加齢や、プレオマイシン等の肺胞上皮を傷害し得る外部からの刺激によりさらに促進されると推察された。これらは、肺胞上皮の傷害・異常がヒト肺線維症発症の根底にあるという仮説を裏付けるものでもあり、CD151は難病とされる肺線維症のメカニズム解明の手掛かり、ならびに治療のターゲットとなり得るとも考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は、CD151ノックアウトマウスを用い、CD151が欠損すると肺に線維化がおこり、加齢や経気道的プレオマイシン刺激により増悪することを示した。また、これらのメカニズムとして、CD151が欠損すると基底膜上での肺胞上皮の接着剥離が亢進し、肺胞上皮が不安定化することが原因の一つであることを提示した。さらに申請者は、ヒト肺線維症患者においても肺胞上皮のCD151の発現減弱がある可能性を示し、ヒトの病態への関与を示唆した。

肺線維症は難病とされており、そのメカニズムもほとんど分かっていないが、近年の研究から、肺胞上皮の慢性的な傷害や異常がその発症に強く関わっていることが明らかになってきた。種々の外因性要因がこの肺胞上皮の慢性的な傷害・異常に関わっていることが推察されているが、これら傷害・異常から上皮を防護している宿主側の要因についてはほとんど分かっていない。今回の研究は、CD151が肺胞上皮に保護的に働くことで肺を線維症から抑制していることを示しており、難病であるヒト肺線維症メカニズムの解明ならびに新たな治療法の開発につながる発見であると考えられた。

以上を総合的に判断し、上記の研究成果は、博士（医学）の学位授与に値するものとする。