

島田 秀一 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

CXCL17-mediated downregulation of type I collagen via MMP1 and miR-29 in skin fibroblasts possibly contributes to the fibrosis in systemic sclerosis
(全身性強皮症における、C-X-C motif chemokine ligand 17 (CXCL17) のMMP1とmiR-29を介したI型コラーゲン抑制作用の検討)

全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc) は皮膚をはじめ様々な臓器に線維化を生じる膠原病である。病因として、炎症、自己免疫反応、血管内皮障害等による線維芽細胞活性化が細胞外基質産生亢進を生じると考えられ、この過剰な線維化に種々のサイトカイン、ケモカインが関与することが想定されるが、詳細はいまだ不明である。申請者は、近年病態への関与の可能性が示唆される新規 C-X-C モチーフケモカイン CXCL17 に着目し、線維芽細胞における細胞外基質産生への影響を検討するとともに、患者サンプル、および強皮症モデルマウスを用いて、強皮症の病態への関与を明らかにすることを目的とした。

方法として、まず培養皮膚線維芽細胞を CXCL17 で刺激し、I 型コラーゲンや matrix metalloproteinase 1 (MMP1)、microRNA-29 (miR-29) の mRNA および蛋白発現をそれぞれリアルタイム PCR 法、免疫ブロット法で評価するとともに、MEK 阻害剤等を用いて細胞内シグナルについて解析した。次に、患者皮膚組織の CXCL17 mRNA と蛋白発現についてリアルタイム PCR 法および免疫組織化学法で検討を行い、また患者血清中 CXCL17 濃度を ELISA 法にて解析した。さらに、ブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスに CXCL17 を投与した際の皮膚組織変化について、HE 染色およびコラーゲンアッセイ法を用いて解析した。

その結果、培養皮膚線維芽細胞への CXCL17 の刺激は I 型コラーゲンの mRNA および蛋白発現を有意に抑制した。さらに CXCL17 刺激にて、I 型コラーゲン産生に抑制的に働く MMP1 と miR-29a が明らかに増加し、MEK 阻害剤の効果から MMP1 増加には MAPK 経路が関与していることが示唆された。また、強皮症の患者由来皮膚組織では健常人と比較し、CXCL17 mRNA の有意の低下を認めた。一方、血清中 CXCL17 濃度は強皮症患者で増加を認めたが、臨床症状との相関は認めなかった。さらに、強皮症モデルマウスに CXCL17 を 3 週間局注したところ、皮膚の線維化が明らかに改善し、コラーゲン産生が有意に抑制された。以上より、CXCL17 は皮膚線維芽細胞において I 型コラーゲン産生抑制作用を有することが明らかとなった。さらに、SSc の線維化に皮膚 CXCL17 低下が関与する可能性、CXCL17 経路への介入が治療法開発につながる可能性が示唆された。

審査では、1) CXCL17 経路と TGF- β との関係、2) 強皮症患者由来の線維芽細胞を使用しなかった理由、3) マウスモデルの妥当性と血中濃度や皮膚での発現の検討、4) 細胞内シグナル解析の妥当性、5) CXCL17 の発現調節と低下の機序、6) CXCL17 欠損マウスの表現型と強皮症病態への関与の有無、7) miR-29a の作用、標的遺伝子と inhibitor の作用様式、8) CXCL17 による MMP1 と miR-29a 発現の時間依存性、9) 患者の血中 CXCL17 濃度と *in vitro* 実験での濃度との整合性、10) 血中 CXCL17 の由来組織、11) CXCL17 経路を用いた創薬への展望、などについて質問がなされ、申請者から概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、SSc の病態の根幹をなす皮膚線維化における CXCL17 の関与を *in vitro*、*in vivo* 両面から詳細に検討したものであり、今後の SSc の病因・病態解明、治療法進展のために重要な研究と考えられ、学位の授与に値すると評価した。

審査委員長 腎臓内科学担当教授

向山 政志