

学位論文抄録

全身性強皮症培養皮膚線維芽細胞におけるdiscoidin domain receptor 2の
I型コラーゲン発現に与える影響およびその機序についての研究
(Effects and mechanisms of discoidin domain receptor 2 on type I collagen
expression in cultured scleroderma dermal fibroblasts)

牧野雄成

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚機能病態学

指導教員

尹浩信 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚病態治療再建学

学位論文抄録

【目的】全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc)は、皮膚をはじめ多臓器に線維化を生じる膠原病として知られる。病因は不明だが、血管障害、自己免疫異常、代謝異常が病態に関与していると考えられ、皮膚線維芽細胞自身が分泌する transforming growth factor 1 (TGF- β 1)が活性化し、I型コラーゲンなどの細胞外基質遺伝子転写が亢進するとされる。一方 discoidin domain receptor 2 (DDR2)は細胞膜に存在する受容体型チロシンキナーゼで、I型コラーゲンをリガンドとし、コラーゲン代謝を通して様々の細胞機能に関与する。本研究では、SScにおけるDDR2の役割を検討し、さらにDDR2によるI型コラーゲン制御へのmicroRNA (miRNA)の関与を検討した。またSSc培養皮膚線維芽細胞での過剰発現が報告されているインテグリン α vに注目、インテグリン α vを標的とするmiRNAの *Homo sapiens* miR-142 stemloop (hsa-miR-142-3p)血清濃度を検討し、バイオマーカーとしての有用性を検討した。

【方法】培養皮膚線維芽細胞におけるDDR2及びI型コラーゲン mRNA および蛋白発現量をリアルタイムPCR法、免疫ブロット法で評価し、DDR2やTGF- β 1のシグナル伝達経路の阻害にはsmall interfering RNA (siRNA)を用いた。細胞でのDDR2の過剰発現にはレンチウイルスベクターによる遺伝子導入を利用した。細胞や血清のmiRNA濃度はリアルタイムPCR法により評価した。

【結果】SSc培養皮膚線維芽細胞では健常人培養皮膚線維芽細胞と比較して、DDR2のmRNA、蛋白発現量が有意に低下していた。この低下は、TGF- β 1の阻害によって回復した。健常人培養皮膚線維芽細胞では、DDR2の過剰発現によってI型コラーゲンの増加を生じた。一方DDR2の阻害は、I型コラーゲンを標的とするmiRNA、miR-196a量の増加と、I型コラーゲンの低下をもたらした。SSc培養皮膚線維芽細胞では、miR-196a量は健常人より低下しており、さらにDDR2の阻害によるmiR-196aの増加が起らなかった。一方、血清miRNA濃度の検討では、SScの血清miR-142-3p濃度は健常人より有意に上昇していた。

【考察】SSc培養皮膚線維芽細胞では自己TGF- β 1刺激によりDDR2が低下していると推測された。健常人培養皮膚線維芽細胞ではDDR2低下がmiR-196a上昇を生じることでI型コラーゲンの低下に寄与するが、SScではこれが障害されていた。DDR2とmiR-196aによるI型コラーゲン制御の障害は、SScでの過剰なコラーゲン産生の維持に関与することが示唆された。また血清miR-142-3p濃度の上昇がSScの病態に関与している可能性が考えられた。

【結論】SScにおけるDDR2やmiRNAの詳細な検討は、その病態解明への一助となり得ると考えられた。