

研究題目 組織の線維化を促進する分子を介したシグナル伝達経路の解明

研究組織

研究代表者：仲矢道雄（九州大学 大学院薬学研究院）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学 先端酵素学研究所）

研究分担者：廣中貴則（九州大学 大学院薬学研究院）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

線維化とは、炎症等によって組織にコラーゲンなどの細胞外マトリックス蛋白質が過剰に産生された状態である。線維化は、組織を硬くすること等により、各種臓器の機能を大きく低下させる。従って、線維化の制御は、心肥大や肺線維症、慢性腎不全、脂肪肝等、様々な慢性炎症関連疾患において極めて重要な課題となっている。

しかしながら、未だ決定的な線維化制御法は無く、線維化に対する画期的な治療法、薬の確立が望まれている。組織の線維化は、コラーゲン等を産生する筋線維芽細胞という細胞群によって実行される。筋線維芽細胞は、組織が正常な時には存在せず、炎症を契機にして、主として常在性の線維芽細胞が分化することにより生じる。しかしながら、筋線維芽細胞による線維化因子の過剰産生の分子メカニズムは未だ不明な点が多い。

我々は、VGLL3 (Vestigial-like family member 3) が正常時のマウス組織には存在せず、線維化した組織の筋線維芽細胞にのみ特異的に発現することを見出した。さらに VGLL3 は線維化を促進することを見出した。

実際、VGLL3 のノックアウトマウスにおいては、心筋梗塞後の心臓の線維化が有意に低下していた。

線維化促進に関する VGLL3 の上流、下流分子は、未だ明らかではない。これまでの質量分析解析から下流分子候補として RNA 結合タンパク質、EWSR1 が同定された。すなわち、EWSR1 を筋線維芽細胞においてノックダウンすると、VGLL3 のノックダウン時と同じく、コラーゲンなどの線維化因子の発現が有意に低

下した。

そこで今年度の共同研究では、内在性の VGLL3 と EWSR1 が結合するかについて検討することを目的とした。

[1-2] 研究の方法・経過

マウスに心筋梗塞モデル処置を施し、線維化を誘導した心臓から筋線維芽細胞を単離した。その後、単離した筋線維芽細胞を用いて anti-VGLL3 抗体あるいは Control IgG により免疫沈降を行った。その後、免疫沈降物を PRM (parallel reaction monitoring) 法による質量分析を行い、EWSR1 を定量解析した。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

上記の PRM 法による質量分析解析の結果、EWSR1 由来のペプチドは、anti-VGLL3 抗体による免疫沈降物にのみ検出された。さらにこのペプチド量は、免疫沈降前の筋線維芽細胞への siVgll3 処置により大きく減少した。これらの結果から内在性の VGLL3 と EWSR1 は結合することが明らかとなった。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究をもとに VGLL3 が RNA 結合タンパク質である、EWSR1 と結合し、miR-29b の産生量を抑制することで、コラーゲン mRNA 量を増加させることが明らかとなった。

VGLL3 と EWSR1 は共に液-液相分離する蛋白質であり、同じ condensate 内に存在する。今後は、この condensate 内で VGLL3 と EWSR1 がどのようなメカニズムで miR-29b の産生を抑制

するかについて検討していく予定である。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

Yuma Horii[#], Shoichi Matsuda[#], Chikashi Toyota, Takumi Morinaga, Takeo Nakaya, Soken Tsuchiya, Masaki Ohmuraya, Takanori Hironaka, Ryo Yoshiki, Kotaro Kasai, Yuto Yamauchi, Noburo Takizawa, Akiomi Nagasaka, Akira Tanaka, Hidetaka Kosako, & Michio Nakaya. [#]: equally contributed

VGLL3 is a mechanosensitive protein that promotes cardiac fibrosis through liquid-liquid phase separation.

Nat. Commun. 14(1) 550, (2023)

[3-2] 学会発表

1) Michio Nakaya

「Identification of a mechanosensitive protein that promotes cardiac fibrosis」

International symposium on mechanobiology for Human Health

Tokyo、2023年3月22日（シンポジウム）

2) 仲矢道雄

「新規線維化促進因子の同定」

第95回日本生化学会大会

名古屋、2022年11月9日（シンポジウム）

3) 仲矢道雄

「機械的刺激による組織の線維化」

日本機械学会第34回バイオエンジニアリング講演会

福岡、2022年6月26日（シンポジウム）

4) 仲矢道雄

「新規線維化促進因子の同定」

第54回日本結合組織学会学術大会

大阪、2022年6月25日（シンポジウム）

[3-3] 成果資料等

九州大学プレスリリース

[https://www.kyushu-](https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/878)

[u.ac.jp/ja/researches/view/878](https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/878)

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

これまでの共同研究により、VGLL3が機械的刺激によって核移行し、EWSR1と結合することによりコラーゲン mRNA 量を増加させるこ

とを見出した（図1）。産生されたコラーゲンは、組織をより硬くする。この硬化によってさらなる VGLL3 の核移行とコラーゲン産生が誘導される。

今後は、線維化促進経路における VGLL3 の上流分子の同定および機械的刺激に伴う VGLL3 の翻訳後修飾の変化を明らかにしたいと考えている。

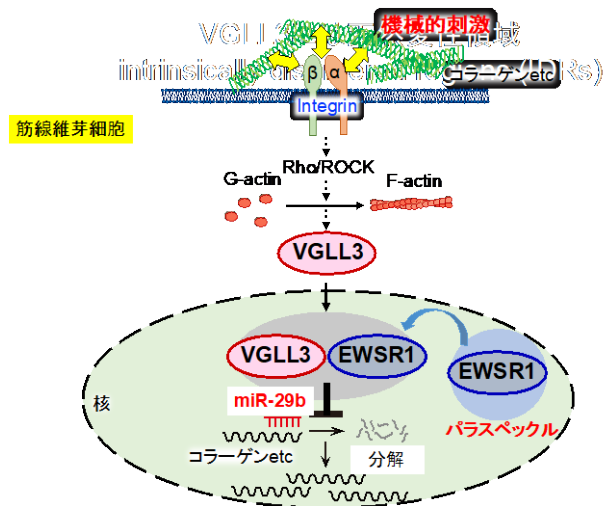


図1. 機械的刺激による VGLL3 を介したコラーゲン産生の分子機構