

松島 綱治

東京大学大学院医学系研究科  
教授

慢性炎症に伴う臓器線維化の分子・細胞基盤

## § 1. 研究実施体制

### (1)「松島」グループ

① 研究代表者: 松島 綱治 (東京大学大学院医学系研究科、教授)

#### ② 研究項目

- (1) 新規遺伝子改変マウスの開発
- (2) 肺線維症モデルにおける組織細胞、炎症細胞の動態解析
- (3) 正常および線維化誘導肺由来線維芽細胞の transcriptome 解析
- (4) MSC 由来線維芽細胞分化系および線維芽細胞活性化系の確立

### (2)「和田」グループ

① 主たる共同研究者: 和田 隆志 (金沢大学医薬保健研究域医学系、教授)

#### ② 研究項目

- (5) S1P による炎症の遷延化、筋線維芽細胞分化・活性化の制御
- (6) 肝臓における線維化と炎症に関する基盤研究
- (7) 炎症の遷延化、筋線維芽細胞分化・活性化の分子基盤の確立
- (8) 腎線維化に関わる細胞基盤の確立

### (3)「義江」グループ

① 主たる共同研究者: 義江 修 (近畿大学医学部、教授)

#### ② 研究項目

- (9) マウス  $\gamma$  ヘルペスウイルス誘導性肺線維症モデルの構築とその解析
- (10) 筋線維芽細胞の発生・活性化制御因子の同定と機能解析

(4)「上阪」グループ

① 主たる共同研究者: 上阪 等 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科、教授)

② 研究項目

- (11) 関節炎における滑膜線維芽細胞の活性化機構
- (12) 膠原病に合併した肺線維症における fibrocyte の解析
- (13) 筋炎における筋由来細胞遊走因子の同定

(5)「稲垣」グループ

① 主たる共同研究者: 稲垣 豊 (東海大学医学部、教授)

② 研究項目

- (14) 肝線維化過程におけるコラーゲン産生細胞の由来と初期動態

## § 2. 研究実施の概要

臓器線維化は、臓器固有の機能、たとえば肺におけるガス交換や、肝臓、腎臓における代謝などを担う上皮組織が、慢性炎症の過程で、I型コラーゲンなどの細胞外マトリックスに置き換わり硬くなることで臓器不全に陥る疾患です。詳しいメカニズムは未だ解明されておらず、多くの場合で薬剤による治療が困難であり、発症機序の解明と、新たな診断マーカーおよび治療法の開発が望まれています。線維化をもたらす原因として、活性化した線維芽細胞が線維化部位に集積し、I型コラーゲンを大量に産生することが明らかになっています。研究代表者らのグループは、I型コラーゲンを大量に産生する線維芽細胞の量的・質的変動の解明が肺線維症の予防・治療法の確立に不可欠と考え、マウス肺線維症モデルを解析しました。その結果、線維化の病態形成過程では、活性化した線維芽細胞は増殖と細胞死の動的平衡状態にあり、従来の考えとは異なり数的には増加せず、移動により線維化部位へ集積することが分かりました。さらに、活性化線維芽細胞ではオステオポンチンをはじめとする細胞外高分子や、細胞周期や細胞移動に関与する分子をコードする遺伝子の発現が亢進していることも分かりました。これらの研究成果をもとに、肺線維症における線維芽細胞の活性化に関わる細胞・分子制御についてさらに研究をすすめるため、原因と進行過程の異なる2つのマウス肺線維症モデルを作成し、線維芽細胞における遺伝子発現変動を詳細に解析したところ、線維芽細胞の活性化様態は、病因や時期(急性期、寛解期、慢性期)によって異なることが分かってきました。急性期および慢性期では細胞増殖や細胞外基質に関わる遺伝子が、一方寛解期では組織再構築などに関わる遺伝子群が発現上昇しており、これらの発現を制御する細胞内外の分子を同定することで、線維化の進行を抑制または寛解を促進する治療戦略につながることを期待しています。また、チーム全体としては、肺、肝臓、腎臓の線維化や、関節炎における線維芽細胞の活性化に関わる細胞群や炎症介在因子の解明と、治療・診断標的の探索を進めています。肺線維化の過程では、感染症などの際に細菌を貪食除去することで生体防御に重要な役割を担う炎症性単球/マクロファージが、上皮細胞、内皮細胞、線維芽細胞の活性化に対して抑制的な役割を果たしており、この細胞の供給を止めると肺線維症が増悪する局面もあることが

分かってきました。また、分子レベルでは、多様な生理活性を持つスフィンゴシン-1-リン酸や、感染防御などに関わるサイトカインである IL-27、ストレス誘導性タンパク質である HSP27 などが、線維化を促進する役割を担っていることも明らかになってきており、新規治療標的として期待しています。肝線維化においては、肝線維症の発症と進展に TGF- $\beta$  /Smad シグナルを介する肝実質内の星細胞活性化が関与していること、一方、線維芽細胞の活性化に関わる増殖因子である PDGF のシグナルを、ビタミンの 1 種であるレチノイドなどで阻害し、線維化の進展を阻止できることが明らかになってきました。腎線維化についても、リン脂質メディエーターである lysophosphatidic acid (LPA) が CTGF による線維芽細胞増殖を促進することで線維化を促進すること、また糖尿病患者に生じる高糖条件下では、腎固有細胞(尿細管上皮細胞)に炎症促進性サイトカインの発現が誘導され、糖尿病患者における慢性炎症の一因となっていることを明らかにしました。さらに、関節炎モデルの解析からは、選択的 CDK4/6 阻害剤と抗サイトカイン抗体の併用により、滑膜線維芽細胞の増殖および活性化を抑制し、関節炎を軽減できることを明らかにしました。今後、これらの成果をもとに、臓器線維化において共通または臓器固有の分子・細胞基盤を確立し、新規診断・治療標的の開発につなげることを目指しています。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国際)

A-1. Shin-ichi Hashimoto, Katsumi Ogoshi, Atsushi Sasaki, Jun Abe, Wei Qu, Yoichiro Nakatani, Budrul Ahsan, Kenshiro Oshima, Francis H. W. Shand, Akio Ametani, Yutaka Suzuki, Shuichi Kaneko, Takashi Wada, Masahira Hattori, Sumio Sugano, Shinichi Morishita, Kouji Matsushima. Coordinated Changes in DNA Methylation in Antigen-Specific Memory CD4 T Cells. *J Immunol.* 190(8):4076-91, 2013 (doi: 10.4049/jimmunol.1202267.).

A-2. Nobuyuki Onai, Kazutaka Kurabayashi, Mayuka Hosoi-Amaike, Noriko Toyama-Sorimachi, Kouji Matsushima, Kayo Inaba, Toshiaki Ohteki. A Clonogenic Progenitor with Prominent Plasmacytoid Dendritic Cell Developmental Potential. *Immunity.* 38(5):943-57, 2013 (doi: 10.1016/j.immuni.2013.04.006.).

A-3. Kensuke Nakamura, Kent Doi, Koji Okamoto, Syunnya Arai, Satoshi Ueha, Kouji Matsushima, Susumu Nakajima, Naoki Yahagi, Eisei Noiri. Specific Antibody in IV Immunoglobulin for Postsplenectomy Sepsis. *Crit Care Med.* 41(8):e163-70, 2013 (doi: 10.1097/CCM.0b013e318287f1de.).

A-4. Koji Atarashi, Takeshi Tanoue, Kenshiro Oshima, Wataru Suda, Yuji Nagano, Hiroyoshi Nishikawa, Shinji Fukuda, Takuro Saito, Seiko Narushima, Koji Hase, Sangwan Kim, Joëlle V. Fritz, Paul Wilmes, Satoshi Ueha, Kouji Matsushima, Hiroshi Ohno, Bernat Olle, Shimon Sakaguchi, Tadatsugu Taniguchi, Hidetoshi Morita, Masahira Hattori, Kenya Honda. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 500(7461):232-6, 2013 (doi: 10.1038/nature12331.).

A-5. Hideaki Ohyagi, Nobuyuki Onai, Taku Sato, Satoshi Yotsumoto, Jiajia Liu, Hisaya Akiba, Hideo Yagita, Koji Atarashi, Kenya Honda, Axel Roers, Werner Müller, Kazutaka Kurabayashi, Mayuka Hosoi-Amaiike, Naoto Takahashi, Makoto Hirokawa, Kouji Matsushima, Kenichi Sawada, Toshiaki Ohteki. Monocyte-Derived Dendritic Cells Perform Hemophagocytosis to Fine-Tune Excessive Immune Responses. *Immunity*. 39(3):584-98, 2013 (doi: 10.1016/j.immuni.2013.06.019.).

A-6. Akihiro Hosoi, Hirokazu Matsushita, Kanako Shimizu, Shin-ichiro Fujii, Satoshi Ueha, Jun Abe, Makoto Kurachi, Ryuji Maekawa, Kouji Matsushima, Kazuhiro Kakimi. Adoptive cytotoxic T lymphocyte therapy triggers a counter-regulatory immunosuppressive mechanism via recruitment of myeloid-derived suppressor cells. *Int J Cancer*. 134(8):1810-22, 2014 (doi: 10.1002/ijc.28506.).

A-7. Francoise Bachelier, Adit Ben-Baruch, Amanda M. Burkhardt, Christophe Combadiere, Joshua M. Farber, Gerard J. Graham<sup>1</sup>, Richard Horuk, Alexander Hovard Sparre-Ulrich, Massimo Locati<sup>1</sup>, Andrew D. Luster, Alberto Mantovani, Kouji Matsushima, Philip M. Murphy, Robert Nibbs<sup>1</sup>, Hisayuki Nomiyama, Christine A. Power, Amanda E. I. Proudfoot, Mette M. Rosenkilde, Antal Rot<sup>1</sup>, Silvano Sozzani<sup>1</sup>, Marcus Thelen<sup>1</sup>, Osamu Yoshie, Albert Zlotnik. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIX. Update on the Extended Family of Chemokine Receptors and Introducing a New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Pharmacol Rev*. 66(1):1-79, 2013 (doi: 10.1124/pr.113.007724.).

A-8. Tatsuya Tsukui, Satoshi Ueha, Jun Abe, Shin-ichi Hashimoto, Shigeyuki Shichino, Takeshi Shimaoka, Francis H.W. Shand, Yasuka Arakawa, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Yutaka Inagaki, Michio Tomura, Kouji Matsushima. Qualitative Rather than Quantitative Changes Are Hallmarks of Fibroblasts in Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis. *Am J Pathol*. 183(3):758-73, 2013 (doi: 10.1016/j.ajpath.2013.06.005.).

A-9. S-W Wang, S S-W Wang, D-C Wu, Y-C Lin, C-C Ku, C-C Wu, Chai, J-N Lee, E-M Tsai, C-LS Lin, R-C Yang, Y-C Ko, H-S Yu, C Huo, C-P Chuu, Y Murayama, Y Nakamura, S Hashimoto, K Matsushima, C Jin, R Eckner, C-S Lin, S Saito, K K Yokoyama. Androgen receptor-mediated apoptosis in bovine testicular induced pluripotent stem cells in response to phthalate esters. *Cell Death Dis.* 4(11): e907, 2013 (doi: 10.1038/cddis.2013.420).

A-10. Souichi Shiratori, Mizuha Kosugi-Kanaya, Satoshi Ueha, Junichi Sugita<sup>1</sup>, Akio Shigematsu, Takeshi Kondo, Daigo Hashimoto, Katsuya Fujimoto, Tomoyuki Endo, Mitsufumi Nishio, Satoshi Hashino, Yoshihiro Matsuno, Kouji Matsushima, Junji Tanaka, Masahiro Imamura, Takanori Teshima. Bone Marrow Graft-versus-Host Disease: Evaluation of Its Clinical Impact on Disrupted Hematopoiesis after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 20(4):495-500, 2014 (doi: 10.1016/j.bbmt.2013.12.568.).

A-11. Etsuko Toda, Yuya Terashima, Kaori Esaki, Sosuke Yoshinaga, Minoru Sugihara, Yutaka Kofuku, Ichio Shimada, Makiko Suwa, Shiro Kanegasaki, Hiroaki Terasawa, Kouji Matsushima. Identification of a binding element for the cytoplasmic regulator FROUNT in the membrane-proximal C-terminal region of chemokine receptors CCR2 and CCR5. *Biochem J.* 457(2):313-22, 2014 (doi: 10.1042/BJ20130827.).

A-12. Hayakazu Sumida, Keisuke Yanagida, Yoshihiro Kita, Jun Abe, Kouji Matsushima, Motonao Nakamura, Satoshi Ishii, Shinichi Sato, Takao Shimizu. Interplay between CXCR2 and BLT1 Facilitates Neutrophil Infiltration and Resultant Keratinocyte Activation in a Murine Model of Imiquimod-Induced Psoriasis. *J Immunol.* 2014 (in press).

B-1. Hong Cui, Yasuo Okamoto, Kazuaki Yoshioka, Wa Du, Noriko Takuwa, Wei Zhang, Masahide Asano, Toshishige Shibamoto, Yoh Takuwa. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 protects against anaphylactic shock through suppression of eNOS in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 132(5):1205-1214, 2013 (DOI: 10.1016/j.jaci).

B-2. Akinori Hara, Norihiko Sakai, Kengo Furuichi, Yoshio Sakai, Motohiro Takeya, Richard Bucala, Naofumi Mukaida, Yoh Takuwa, Kouji Matsushima, Shuichi Kaneko, Takashi Wada. CCL2/CCR2 augments the production of transforming growth factor-beta1, type 1 collagen and CCL2 by human CD45-/collagen 1-positive cells under high glucose concentrations. *Clin Exp Nephrol.* 17(6):793-804, 2013 (doi:10.1007/s10157-013-0796-6).

B-3. Hikari Okada, Masao Honda, Jean S. Campbell, Yoshio Sakai, Taro Yamashita, Yuuki Takebuchi, Kazuhiro Hada, Takayoshi Shirasaki, Riuta Takabatake, Mikiko Nakamura, Hajime Sunagozaka, Takuji Tanaka, Nelson Fausto, Shuichi Kaneko. Acyclic retinoid targets platelet-derived growth factor signaling in the prevention of hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma development. *Cancer Res.* 72(17):4459-71, 2012 (doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0028.).

B-4. Soichiro Sasaki, Tomohisa Baba, Kei Shinagawa, Kouji Matsushima, Naofumi Mukaida. Crucial involvement of the CCL3-CCR5 axis-mediated fibroblast accumulation in colitis-associated carcinogenesis in mice. *Int J Cancer.* 2014 (doi: 10.1002/ijc.28779.).

B-5. Ryoko Hamano, Tomohisa Baba, Soichiro Sasaki, Utano Tomaru, Akihiro Ishizu, Mitsuhiro Kawano, Masakazu Yamagishi, Naofumi Mukaida. Ag and IL-2 immune complexes efficiently expand Ag-specific Treg cells that migrate in response to chemokines and reduce localized immune responses. *Eur J Immunol.* 2014 (doi: 10.1002/eji.201343434.).

B-6. Tomohisa Baba, Kazuhito Naka, Soji Morishita, Norio Komats, Atsushi Hirao, Naofumi Mukaida. MIP-1 alpha/CCL3-mediated maintenance of leukemia initiating cells in the initiation process of chronic myeloid leukemia. *J Exp Med.* 210(12): 2661-2673, 2013 (doi:10.1084/jem20130112.).

B-7. Minako Arai, Yuka Ikawa, Sonoko Chujo, Yasuhito Hamaguchi, Wataru Ishida, Fumiaki Shirasaki, Minoru Hasegawa, Naofumi Mukaida, Manabu Fujimoto, Kazuhiko Takehara. Chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 regulate skin fibrosis in the mouse model of cytokine-induced systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* 69(3): 250-258, 2013(doi. 10.1016/j.jdermsci.2012.10.010).

B-8. Hong-Xiang Liu, Olga Lopatina, Chiharu Higashida, Hiroko Fujimoto, Shirin Akther, Alena Inzhutova, Mingkun Liang, Jing Zhong, Takahiro Tsuji, Toru Yoshihara, Kohei Sumi, Mizuho Ishiyama, Wen-Jie Ma, Mitsunori Ozaki, Satoshi Yagitani, Shigeru Yokoyama, Naofumi Mukaida, Takeshi Sakurai, Osamu Hori, Katsuji Yoshioka, Atsushi Hirao, Yukio Kato, Katsuhiko Ishihara, Ichiro Kato, Hiroshi Okamoto, Stanislav M. Cherepanov, Alla B. Salmina, Hirokazu Hirai, Masahide Asano, David A. Brown, Isamu Nagano, Haruhiro Higashida. Displays of mouse pup retrieval as paternal parental behaviour following communicative interaction with maternal mates. *Nature Commun.*

4:1346, 2013 (DOI: 10.1038/ncomms2336.).

B-9. Mayumi Egawa, Kaori Mukai, Soichiro Yoshikawa, Misako Iki, Naofumi Mukaida, Yohei Kawano, Yoshiyuki Minegishi, Hajime Karasuyama. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived IL-4. *Immunity*. 38(3):570-580, 2013 (doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.014.).

B-10. Akinori Hara, Norihiko Sakai, Kengo Furuichi, Yoshio Sakai, Motohiro Takeya, Richard Bucala, Naofumi Mukaida, Yoh Takuwa, Kouji Matsushima, Shuichi Kaneko, Takashi Wada. CCL2/CCR2 augments the production of transforming growth factor-beta1, type 1 collagen and CCL2 by human CD45-/collagen 1-positive cells under high glucose concentrations. *Clin Exp Nephrol*. 17(6):793-804, 2013 (doi: 10.1007/s10157-013-0796-6.).

B-11. Yuichi Murakami, Kosuke Watari, Tomohiro Shibata, Manami Uba, Hiroki Ureshino, Akihiko Kawahara, Hideyuki Abe, Hiroto Izumi, Naofumi Mukaida, Michihiko Kuwano, Mayumi Ono. N-myc downstream-regulated gene 1 promotes tumor inflammatory angiogenesis through JNK activation and autocrine loop of interleukin-1 $\alpha$  by human gastric cancer cells. *J Biol Chem*. 288(35):25025-25037, 2013 (10.1074/jbc.M113.472068.).

B-12. Fei Zhang, Bin Liu, Zhen Wang, Xian-Jun Yu, Quan-Xing Ni, Wen-Tao Yang, Naofumi Mukaida, Ying-Yi Li. A novel regulatory mechanism of Pim-3 kinase stability and its involvement in pancreatic cancer progression. *Mol Cancer Res*. 11(12): 1508–1520, 2013 (doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0389.).

B-13. Oshima H, Ishikawa T, Yoshida GJ, Naoi K, Maeda Y, Naka K, Ju X, Yamada Y, Minamoto T, Mukaida N, Saya H, Oshima M. TNF- $\alpha$ /TNFR1 signaling promotes gastric tumorigenesis through induction of Nox1 and Gna14 in tumor cells. *Oncogene*. 2014 (doi: 10.1038/onc.2013.356.).

B-14. Norihiko Sakai, Jerold Chun, Jeremy S. Duffield, Takashi Wada, Andrew D. Luster, Andrew M. Tager. LPA1-induced cytoskeleton reorganization drives fibrosis through CTGF-dependent fibroblast proliferation. *FASEB J*. 27(5):1830-46, 2013 (doi: 10.1096/fj.12-219378.).

B-15. Yasunori Iwata, Kengo Furuichi, Shinichi Hashimoto, Kiyonobu Yokota,

Haruka Yasuda, Norihiko Sakai, Shinji Kitajima, Tadashi Toyama, Yasuyuki Shinozaki, Akihiro Sagara, Kouji Matsushima, Shuichi Kaneko, Takashi Wada. Pro-inflammatory/Th1 gene expression shift in high glucose stimulated mesangial cells and tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 443(3):969-74, 2014 (doi: 10.1016/j.bbrc.2013.12.072.).

C-1. Ji-Ye Kee, Aya Ito, Shozo Hojo, Isaya Hashimoto, Yoshiko Igarashi, Kazuhiro Tsukada, Tatsuro Irimura, Naotoshi Shibahara, Takashi Nakayama, Osamu Yoshie, Hiroaki Sakurai, Ikuo Saiki, Keiichi Koizumi. Chemokine CXCL16 suppresses liver metastasis of colorectal cancer via augmentation of tumor-infiltrating natural killer T cells in a murine model. *Oncology Reports.* 29(3):975-982, 2013 (doi: 10.3892/or.2012.2185).

C-2. Moriguchi Kota, Miyamoto Ktsuichi, Noriko Tanaka, Osamu Yoshie, Susumu Kusunoki. The importance of CCR4 and CCR6 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology.* 257(1-2):53-58, 2013 (doi: 10.1016/j.neuroim.2013.02.002).

C-3. Tomonori Higuchi, Takashi Nakayama, Tokuzo Arao, Kazuto Nishio, Osamu Yoshie. SOX4 is a direct target gene of FRA-2 and induces expression of HDAC8 in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 121(18):3640-3690, 2013 (doi: 10:1182/blood-2012-07-441022).

C-4. Lu Zhao, Kazuo Yasumoto, Atsuhiko Kawashima, Takayuki Nakagawa, Shinji Takeuchi, Tadaaki Yamada, Kunio Matsumoto, Kazuhiko Yonekura, Osamu Yoshie, Seiji Yano. Paracrine activation of MET promotes peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. *Cancer Science.* 104(12):1640-1646, 2013 (doi: 10.1111/cas.12301).

E-1 Xiaoran Li, Ying Bian, Yuri Takizawa, Tomio Hashimoto, Toshiyuki Ikoma, Junzo Tanaka, Naomi Kitamura, Yutaka Inagaki, Masayuki Komada, Toshiaki Tanaka. ERK-dependent downregulation of Skp2 reduces Myc activity with HGF, leading to inhibition of cell proliferation through a decrease in Id1 expression. *Molecular Cancer Research.* 11(11):1437-1447, 2013 (doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0718).

E-2 Karina Reyes-Gordillo, Ruchi Shah, Jaime Arellanes-Robledo, Zamira Hernández-Nazara, Ana Rosa Rincón-Sánchez, Yutaka Inagaki, Marcos Rojkind, M. Raj Lakshman. Mechanisms of action of acetaldehyde in the up regulation of the human  $\alpha 2(I)$  collagen gene in hepatic stellate cells-key roles of Ski, SMAD3, SMAD4 and

SMAD7. Am J Pathol, 2014 (in press).

E-3 Hanako Yamaoka, Hideaki Sumiyoshi, Kiyoshi Higashi, Sachie Nakao, Kaori Minakawa, Kayo Sumida, Koichi Saito, Norihiro Ikoma, Tomotaka Mabuchi, Akira Ozawa, Yutaka Inagaki. A novel small compound accelerates dermal wound healing by modifying infiltration, proliferation and migration of distinct cellular components in mice. J Dermatol Sci, 2014 (in press).

### (3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)