

長寿医療研究開発費 2025年度 総括研究報告

慢性呼吸器疾患における細胞病態の役割と新たな治療標的の探索（25－2）

主任研究者 杉本 昌隆 国立長寿医療研究センター 細胞病態研究部（部長）

研究要旨

本研究は、慢性呼吸器疾患における組織修復不全の分子基盤を、細胞老化の観点から解明し、新規治療標的を探索することを目的として実施した。本研究では、老化細胞が肺前駆細胞（BASC/AT2）の分化・再生能に影響を与えることを見出し、その機構として核内受容体 **Lxrβ**（**Nr1h2**）シグナルの関与を中心に解析を行った。

その結果、**Nr1h2** アゴニスト刺激により肺前駆細胞の分化様式が変化し、**AT1** マーカーの発現上昇と **AT2** マーカーの低下を認めた。また、**RNA** シークエンス解析により、**Nr1h2** 標的遺伝子に加えて組織形成・修復関連遺伝子群の誘導が確認された。さらに、老化細胞由来因子が **Nr1h2** シグナルを抑制する機構として、エクソソーム内 **miRNA** による **3'UTR** 依存的な発現制御が関与する可能性を見出した。加えて、肺気腫モデルにおいても同様のシグナル変化が示唆されており、老化細胞が肺再生機構を制御する新たな分子基盤の存在が明らかとなった。

以上の結果から、細胞老化は単なる病態促進因子ではなく、肺前駆細胞の分化および再生プログラムを制御する重要な調節因子として機能する可能性が示された。本研究は、慢性呼吸器疾患における修復不全の理解を深化させるとともに、**Lxr** シグナルを基盤とした新規治療戦略の開発につながる知見を示した。

主任研究者

杉本 昌隆 国立長寿医療研究センター 細胞病態研究部（部長）

A. 研究目的

本研究は、慢性呼吸器疾患における組織修復不全の分子基盤を、細胞老化の観点から解明し、新規治療標的の同定につなげることを目的とした。特に、老化細胞が肺前駆細胞（**BASC/AT2**）の分化および再生能に及ぼす影響に着目し、その分子機構の解明を目指した。さらに、その分子基盤として核内受容体 **Lxrβ**（**Nr1h2**）と **Wnt** シグナル経路の関係に焦点を当て、分子プロファイリングおよび細胞機能解析を統合することで、修復機構を制御する

分子ネットワークの同定を試みた。加えて、本研究で得られた知見の一般性を検証する観点から、肺気腫の多様な病態形成メカニズムへの適用可能性についても検討した。

B. 研究方法

本研究では、肺前駆細胞に対する老化細胞の影響とその分子機構を明らかにするため、*in vitro* および *in vivo* の両解析系を用いた。

まず、培養肺前駆細胞に対して核内受容体 **Nr1h2** アゴニスト刺激を行い、分化マーカーおよび遺伝子発現変化を解析した。遺伝子発現の網羅的变化については **RNA** シーケンス解析を用いて評価した。

次に、肺前駆細胞の動態を解析するため、**Sftpc-CreERT2** および **Rosa-*ls*-EGFP** を用いたリニエージトレース系を構築し、**GFP** 陽性細胞の分取と遺伝子発現解析を行った。

さらに、老化細胞由来因子の作用機構を検討するため、老化細胞培養上清およびエクソソームを用いた解析を行い、**Nr1h2** 発現制御に関与する **miRNA** の同定と機能評価を行った。

加えて、肺組織修復における前駆細胞の役割を評価するため、**BASC** を標的とした条件的除去モデルを構築し、免疫組織学的手法を用いてその動態を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究において使用する遺伝子サンプルおよび遺伝子改変生物の取り扱い、『生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書』に基づく『遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律』を遵守し、関連委員会の承認を得た上で実施した。

動物実験については、実験動物の福祉に十分配慮し、動物実験倫理委員会の承認を得た上で、動物実験ガイドラインに従って実施した。

本研究ではヒト由来データとして公共データベースに登録された既存データのみを使用し、新たなヒト試料の取得は行っていない。

C. 研究結果

※現在、論文投稿中のため、データは非公開とする。

1) 肺前駆細胞における遺伝子発現解析

肺前駆細胞の分化に対する **Nr1h2** シグナルの影響を検討するため、**Nr1h2** 合成アゴニストを用いた分化実験を行った。その結果、1 型肺胞上皮 (**AT1**) マーカー (**Aqp5**、**Pdpn**) の発現上昇とともに、2 型肺胞上皮 (**AT2**) マーカー (**Sftpc**) の低下が認められ、分化様式の変化が確認された(論文投稿中のため、データ非公開)。また、上皮マーカーである **EpCAM** の発現変化も認められた。

さらに、Nr1h2 アゴニスト刺激後の遺伝子発現変化を RNA シークエンス解析により検討した結果、Wnt 関連遺伝子群の発現変化が認められた（論文投稿中のため、データ非公開）。また、代表的な Wnt 関連遺伝子についてリアルタイム PCR による検証を行ったところ、時間依存的な発現変化が確認された。

また、肺前駆細胞リニエージトレースマウス（Sftpc-CreERT2; Rosa26-LSL-GFP）を作出し、肺組織から GFP 陽性肺前駆細胞（AT2,BASC）を分取し、RNA シークエンス解析を行った。その結果、Nr1h2 アゴニストを投与したマウスの GFP 陽性細胞において AT1 関連遺伝子群の発現変化が認められ、*in vivo* においても同様の分化関連遺伝子変化が確認された（論文投稿中のため、データ非公開）。

老化細胞由来因子による Nr1h2 発現制御機構を検討するため、老化細胞培養上清およびエクソソームを用いた解析を行った。その結果、老化細胞からは Nr1h2 mRNA の 3'UTR を標的とし得る miRNA が分泌され、レポーター実験によってこれらの miRNA が 3'UTR 依存的に遺伝子発現を抑制することが確認された（論文投稿中のため、データ非公開）。

2) 肺修復モデル動物の構築

肺修復系と老化・疾患の関連を明らかにすることを目的として、障害肺の修復過程で重要な役割を担う BASC（Sftpc および Scgb1a1 [CCSP] の共発現細胞）を標的とした除去マウスの樹立を行った。BASC は bronchioalveolar duct junction (BADJ) に局在する（論文投稿中のため、データ非公開）。新たに Scgb1a1-lsl-DTA マウスを樹立し、これを Sftpc-Cre/ERT2 マウスと交配することで、tamoxifen 投与により条件的に BASC を除去できる系を確立した。作出したマウスに tamoxifen を投与したところ、BADJ に局在する BASC 数の顕著な減少が確認された。

3) α1 アンチトリプシン欠損 (AATD) モデルの構築

肺気腫の病態解析を目的として、α1 アンチトリプシン欠損 (AATD) モデルマウスの導入および交配を行い、コロニーの拡大を進めてきた。本年度までに交配条件の最適化を行い、現在では AAT ホモ欠損マウスを安定的に得ることが可能となっている。

一方で、本モデルにおける肺気腫様病態の発症には一定期間を要し、明確な表現型が認められるまでに約 1 年程度を要することが示唆された。今後はこれらの個体を用いて、次年度より本格的な表現型解析および病態評価を進めていく予定である。

D. 考察と結論

本研究では、これまでの予備的検討により、老化細胞が肺修復に対して抑制的に作用す

る可能性を見出しており、その分子機構について解析を行った。特に、老化細胞から分泌される因子が肺前駆細胞の活性に影響を及ぼす可能性に着目し、核内受容体 Nr1h2 シグナルを中心に検討を進めた。その結果、Nr1h2 シグナルが肺前駆細胞の分化制御に関与し、老化細胞存在下ではその活性が低下する可能性が示された。

Nr1h2 シグナルは肺前駆細胞の分化様式に影響を及ぼし、その活性化により AT1 分化の促進および AT2 マーカーの低下が認められたことから、分化制御に関与する重要な因子である可能性が示された。さらに、Nr1h2 活性化に伴い Wnt 関連遺伝子群の発現変化が認められ、分化変化と分子レベルの変化との関連が示唆された。In vivo においても GFP 陽性肺前駆細胞を用いた解析により、これらの遺伝子発現変化が確認された。

このような Nr1h2 シグナルの変化の背景として、老化細胞由来因子による制御機構を検討したところ、エクソソーム内 miRNA を介した転写後制御の関与が示唆され、老化と分化制御を結びつける分子機構の一端が明らかとなった。

さらに、ヒト COPD 患者においては細胞老化の亢進および Wnt シグナルの低下が報告されていることに加え、公共データベースの解析から NR1H2 シグナルの低下が示唆された。これらの知見は、本研究で見出された老化細胞による Nr1h2 制御機構がヒト慢性呼吸器疾患においても関連する可能性を示すものである。

また、BASC 除去モデルの構築により、肺修復過程における前駆細胞の機能的寄与を解析するための基盤が確立され、本研究で示された分化制御機構を細胞レベルで検証するための重要な実験系が整備された。さらに、AATD モデルの導入により、慢性肺疾患における病態との関連を検討するための基盤が構築され、今後の長期的解析により本機構の疾患への関与を明らかにすることが期待される。

以上の結果から、細胞老化は肺前駆細胞の分化制御を介して肺修復機構に影響を及ぼす重要な因子であり、Nr1h2 シグナルを中心とした「分化制御—分子変化—老化」の連関が示された。本研究は、慢性呼吸器疾患における修復不全の理解を深化させるとともに、加齢と再生の接点に関する新たな分子基盤を提示するものである。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tsushima H., Shida T., Hatanaka S., Ohta T., Kojima N., Sasai H., Sugimoto M. Association between serum Pigment-Epithelium-Derived Factor and physical performance in older women: The Otassha Study. PLoS One 20. e0338884. 2025.

- 2) Mikawa T., Kameda M., Ikari S., Shibata E., Liu S., Miyagawa S., Ono K., Ito T., Yoshizawa A., Sugimoto M., Shibuya S., Shimizu T., Almunia J., Ogiso N., Revêchon G., Palazzo A., Bernard D., Kanda H., Soga T., Takubo K., Morioka S., Sasaki J., Sasaki T., Itamoto A., Fujii T., Seno N., Inagaki N., Kondoh H. Abrogation of aberrant glycolytic interactions eliminates senescent cells and alleviates aging-related dysfunctions. *Signal Transduct Target Ther* 10. 402. 2025.
- 3) Hirose M., Watanabe S., Fujita Y., Ohta S., Sugimoto M.* Senolytic Potential of Shea-Derived Amyrins in Senescent Fibroblasts. *Biosci Biotechnol Biochem* 18. 76-87. 2025.
- 4) 杉本昌隆、廣瀬美嘉子、Nurmila Sari 細胞老化と組織老化 老年医学（第2版），日本臨牀（増刊号） 96-101, 2025.
- 5) 津島博道、廣瀬美嘉子、杉本昌隆 運動による細胞老化性抑制の分子基盤と疾患制御 実験医学 Vol. 43 No. 19, 3018-3023, 2025.
- 6) 廣瀬美嘉子、杉本昌隆 慢性呼吸器疾患における老化細胞の病理的役割と治療標的としての可能性 呼吸器内科 47, 476-481, 2025.

2. 学会発表

- 1) 杉本昌隆 細胞老化による肺組織の修復と病態制御 脳心血管抗加齢研究会 第21回学術集会、大阪、2025年12月6日
- 2) 廣瀬美嘉子、杉本昌隆 肺気腫病態における肺再生に対する老化細胞と核内受容体の役割 第48回日本分子生物学会年会、横浜市。2025年12月3日
- 3) 廣瀬美嘉子、渡邊慎平、藤田泰典、太田聡、杉本昌隆 シアバター由来成分のセノリティック作用 第48回日本分子生物学会年会、横浜市。2025年12月3日
- 4) 廣瀬美嘉子、津島博道、杉本昌隆 肺再生機構における老化細胞と核内受容体の関与 第48回日本基礎老化学会大会、千葉県、2025年6月28日
- 5) 杉本昌隆 老化は克服できるのか？—実験科学の視点から 第34回日本老年学会総会、千葉市、2025年6月27日
- 6) Mikako Hirose, Masataka Sugimoto Senescent cells and nuclear receptor signaling: a new approach to lung regeneration in emphysema. The 43rd Spring Conference of the Korean Society for Gerontology, 仁川（韓国）, 2025年6月24日
- 7) 廣瀬美嘉子、杉本昌隆 肺胞再生メカニズムにおける老化細胞の影響と核内受容体の関与 JH リトリート 2025、東京都、2025年6月7日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし