

令和 8 年 1 月 23 日

マウス肺における胸膜中皮細胞の純粹単離、培養、及び 生体内における系譜追跡に成功

<研究成果のポイント>

- マウス肺におけるsingle cell RNA sequencingデータを元に、胸膜中皮細胞の細胞膜に特異的に発現するタンパクであるMesothelin (MSLN)を同定し、フローサイトメトリーを用いた直接単離法を開発しました。
- この手法で単離した胸膜中皮細胞は試験管内で容易に増殖し、各種刺激に対して想定通りの反応性を示したことから、適切に培養可能であることを確認しました。
- 胸膜中皮細胞を標識・追跡できる遺伝子改変マウスを用いて実験的胸膜線維化を誘導したところ、生体の胸膜内で中皮細胞が増殖し、過剰なコラーゲンを産生する筋線維芽細胞への分化することを可視化しました。
- 我々の新規単離手法は、胸膜中皮細胞を使用する今後の研究の質を向上させ、ひいては、胸膜あるいは胸膜下領域の肺が侵される疾患における病態解明に役立つことが期待されます。

※本研究成果は、米国医学雑誌「American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology」に日本時間 2026 年 1 月 23 日に公表されました。

<概要>

浜松医科大学再生・感染病理学講座の遠藤亮和大学院生、榎本泰典助教、岩下寿秀教授らの研究チームは、マウス肺の胸膜中皮細胞^{*1}の細胞表面に存在するタンパクであるMesothelin (MSLN)を同定し、またこれを用いた本細胞の直接単離、培養に成功しました。また、実験的胸膜線維化モデル^{*2}において本細胞を生体内で追跡し、線維化の主役とされる筋線維芽細胞^{*3}へと分化し得ることを明らかにしました。

<研究の背景>

ヒト、マウスともに、肺は胸膜(あるいは臓側胸膜)という一層の膜で覆われてその構造が保持されています。胸膜は中皮細胞という細胞で形成されています。胸膜中皮細胞は胸膜炎や胸膜中皮腫、胸膜・肺の線維化など、様々な胸腔内疾患の病態に関与することが想定されていますが、これまで本細胞を高純度に単離し培養する手法は開発されておらず、胸膜研究の障壁となっていました。

そこで今回我々は、single cell RNA sequencing (scRNA-seq)^{*4}やフローサイトメトリー^{*5}、免疫染色^{*6}などの手法を用いて、この問題にアプローチしました。

<研究手法・成果>

マウス肺のscRNA-seqのデータ解析(図1)により、胸膜中皮細胞において特異的に発現し、かつフローサイトメトリーに適用可能な細胞表面タンパクを探索した結果、数種類の候補遺伝子が抽出されました。そして免疫染色を用いた検証を経て、最も有用なマーカーとしてMSLNを同定しました。さらに単離に際しての様々な条件検討、改良を重ねた結果、平均93.3±0.8%と高純度の胸膜中皮細胞を、新鮮な状態で単離することを可能にしました(図2)。

この手法で単離した胸膜中皮細胞は、特殊な試薬や培養液を必要とせず、通常の細胞培養用プレート上で増殖できました。また、各種成長因子やサイトカインによる刺激に対して、従来の報告と同様の遺伝子変化を再現しました(図3)。すなわち、単離のみならず、初代培養^{*7}が可能であることを確認できました。

胸膜中皮細胞を蛍光タンパクで標識した遺伝子改変マウスを用いて、実験的胸膜線維化モデルを作成し、生体内で胸膜中皮細胞の追跡を行いました。その結果、胸膜内で中皮細胞が増殖し、さらに筋線維芽細胞へと分化して線維化の形成に寄与していることがわかりました。実際、蛍光標識で追跡した胸膜中皮細胞由来の細胞の遺伝子変化を調べると、線維化に関連する遺伝子(*Coll1a1*や*Acta2*)が有意に増加していることがわかりました。また興味深いことに、線維化した胸膜内にいる中皮細胞由来の細胞の多くは、MSLNの発現が消失しており、すなわち中皮間葉転換^{*8}が可視化されました(図4)。

<今後の展開>

本研究の成果により、マウス肺から胸膜中皮細胞を高純度に単離、培養することが可能となりました。これにより、胸膜あるいは胸膜下領域の肺が侵される各種疾患における病態解明に役立つことが期待されます。我々の研究室では今後の展開として、中皮細胞とその他の細胞種との細胞間相互作用の検証や、中皮間葉転換に伴う線維化プロセスを抑制し得る薬剤の探索を計画しています。

<用語解説>

- *1 胸膜中皮細胞：肺を覆う胸膜を構成する細胞。従来、高純度の単離は困難であった。
- *2 実験的胸膜線維化モデル：マウスなどの実験動物の胸腔内に特殊な薬剤を注入し、胸膜に線維化(コラーゲンなどが過剰に蓄積する状態)を誘導する実験システム。
- *3 筋線維芽細胞：コラーゲンなどの細胞外基質の産生能が高い間葉系(非上皮)細胞。線維化の主役となる。
- *4 single cell RNA sequencing (scRNA-seq)：次世代シーケンサーを用いて、個々の細胞が保持している mRNA 全体を網羅的に調べる方法。
- *5 フローサイトメトリー：蛍光レーザーを利用して、不均一な混合液中の細胞の解析や選別をする技術。
- *6 免疫染色：抗体を使って組織や細胞の中の特定のタンパク(抗原)を可視化する技術。
- *7 初代培養：生体から採取したばかりの細胞を、体外で最初に培養すること。人為的に処理された細胞株と比較して、生体内の状態をより反映した実験が可能となる。
- *8 中皮間葉転換：中皮細胞が何らかの刺激を受け、筋線維芽細胞などの間葉系細胞へと分化転換する現象。胸膜の線維化において、重要なプロセスと考えられている。

<発表雑誌>

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology (DOI : 10.1093/ajrcmb/aanaf002)

<論文タイトル>

Pure Isolation, Culture, and Postinjury Lineage Tracing of Mouse Visceral Pleural Mesothelial Cells

<著者>

遠藤 亮和、榎本 泰典、堀口 涼、目黒 史織、河崎 秀陽、小杉 伊三夫、飯島 健太、高林 秀次、岩下 寿秀

<研究グループ>

国立大学法人浜松医科大学 再生・感染病理学講座

<研究支援>

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金（科研費番号 24K11361）及び、本学令和5年度学内研究プロジェクト（選抜研究支援事業）の支援によって行われました。

<本件に関するお問い合わせ先>

国立大学法人浜松医科大学 再生・感染病理学講座
 〒431-3192 浜松市中央区半田山1-20-1
 榎本 泰典（責任著者）
 Tel: 053-435-2223 Fax: 053-435-2224
 E-mail: enomotoy@hama-med.ac.jp

<参考図>

図1：scRNA-seqを用いて、肺の全細胞において中皮細胞の集団を同定(左)。Mesothelinが特異的に発現している(右)。

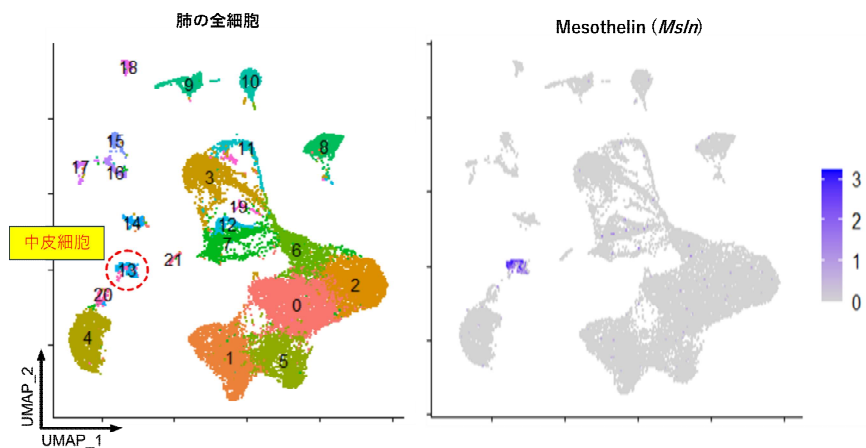


図2：MSLNは胸膜にのみ発現している(左)。MSLNを用いてフローサイトメトリーで細胞を単離すると、高率にWT1(中皮細胞の核に存在するタンパク)が染色される(右)。

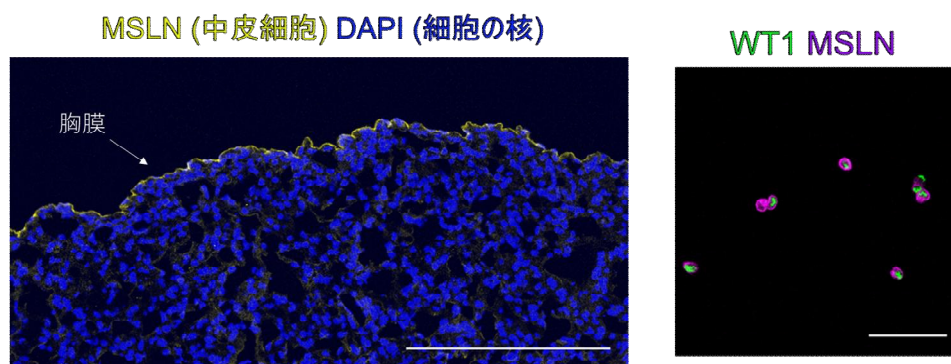


図3：フローサイトメトリーで単離した胸膜中皮細胞(A)は、培養プレート上で増殖し、中皮細胞マーカーであるWT1やPDPNの発現を保持している(B)。成長因子FGF2の刺激を受けると細胞増殖が促される(C)。TGFβ1の刺激を受けると線維化関連遺伝子(*Acta2*, *Colla1*)の発現が誘導され、反対に中皮細胞遺伝子である*Wt1*及び*Msln*の発現が抑制される(D)。

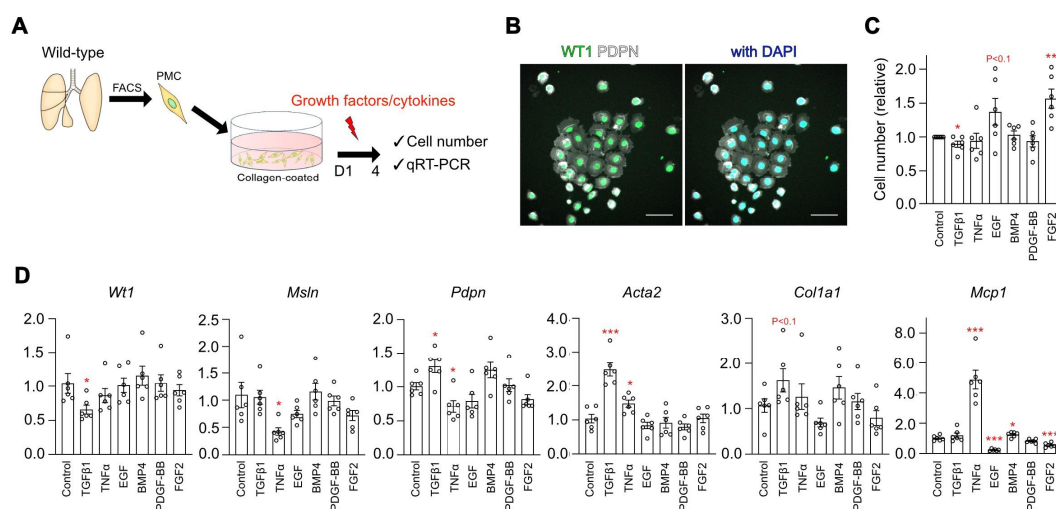


図4：胸膜中皮細胞標識マウスで、肺線維化(“BLM i.t.”)及び胸膜線維化(“BLM+Cb i.pl.”)を誘導した(A, B)。胸膜線維化を誘導した場合のみ、標識された Tomato 陽性細胞は α SMA を発現し(C)、中皮マーカである WT1 や MSLN は減弱する(D)。遺伝子レベルでも同様の変化が見られる(E)。

