

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2021
課題番号：19K17629
研究課題名(和文)炎症性呼吸器疾患におけるmTORの働きの解明

研究課題名(英文)A role of mTOR in inflammatory lung diseases

研究代表者

垂井 愛 (Tarui, Megumi)

東京大学・医学部附属病院・客員研究員

研究者番号：40727749

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、肺上皮細胞特異的の活性化型mTORマウスを用いて、肺上皮細胞におけるmTOR経路の役割を直接的に解析した。その結果、活性化型mTORマウスは、ブレオマイシンマウスモデルにて、肺線維化の増悪をきたすことが証明された。また、網羅的発現解析によりmTOR経路下流に位置するANGPTL4を見出した。in vitroでの解析により、mTORの活性化及びANGPTL4がタイトジャンクション脆弱化及びEMT促進に関与することが示唆された。以上より、肺上皮細胞におけるmTOR経路の活性化は肺線維化を促進する因子であり、またANGPTL4が肺線維症の治療ターゲットになり得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺炎、特に特発性肺線維症は原因不明で慢性かつ進行性の経過をたどり、最終的に不可逆的な線維性病変を形成し高度の拘束性換気障害を呈する極めて予後不良な疾患である。間質性肺炎の薬物治療として知られるピルフェニドンやニンテダニブエタンスルホン酸塩は、2015年国際治療ガイドラインで“条件付き推奨”の位置づけとなっており、努力肺活量の低下抑制効果や急性増悪抑制効果が認められているものの、完治は期待できない。本研究は、間質性肺炎の病態の機序の解明に寄与するものであり、新たな創薬ターゲットの可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of the mTOR pathway in alveolar epithelial type II cells (AEC2) in lung fibrosis. Sftpc-mTORSL1 + IT Tg mice, in which active mTOR is conditionally expressed in AEC2, showed more fibrotic changes and lower lung compliance than control mice after bleomycin administration. RNA sequencing revealed angiopoietin-like 4 (ANGPTL4) as a candidate downstream gene of the mTOR pathway. In vitro studies revealed that ANGPTL4 as well as mTOR promoted tight junction vulnerability and epithelial-mesenchymal transition. Our results demonstrate that mTOR activation in lung epithelial cells promotes lung fibrosis and ANGPTL4, a novel downstream gene of the mTOR pathway, could be related to the etiology of fibrosis.

研究分野：間質性肺炎

キーワード：mTOR 間質性肺炎 肺線維症 モデルマウス 細胞接着 EMT

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症 (IPF) は原因不明で慢性かつ進行性の経過をたどり、最終的に不可逆的な線維性病変を形成し高度の拘束性換気障害を呈する極めて予後不良な疾患である。IPF の薬物治療として知られるピルフェニドンやニンテダニブエタンスルホン酸塩は、2015 年国際治療ガイドラインで "条件付き推奨" の位置づけとなっており、努力肺活量の低下抑制効果や急性増悪抑制効果が認められているが、完治は期待できない。こうした状況から、IPF の病態のさらなる解明と、治療薬の早期開発が望まれている。

IPF の病態として、様々な慢性刺激による肺胞上皮細胞の傷害と異常修復の進行、II 型肺胞上皮細胞から産生されるサイトカイン・ケモカインや増殖因子による上皮間葉転換 (EMT) の進行および線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化・増殖、そして I 型コラーゲンなどの細胞外基質の過剰な沈着、などの関与が示唆されているが、十分に解明されていない点も多い。

Target of rapamycin (TOR) は、免疫抑制剤・抗腫瘍薬として知られていたラパマイシンが細胞内で 12kDa FK506 binding protein (FKBP12) と結合して複合体を形成し、この複合体が結合する細胞内標的タンパク質として、1991 年に酵母で、1994 年に哺乳類で同定された。mechanistic TOR (mTOR) は PI3-kinase related kinase (PIKK) ファミリーに属するセリン・スレオニンキナーゼであり、サブユニット構成の異なる mTOR complex1 (mTORC1) と mTORC2 の独立したタンパク複合体から形成され、シグナル経路は非常に複雑である。mTORC1/2 経路の活性化が間質性肺炎の病態に深く関与しているという研究は多数報告されているが、これらの報告は主に肺線維芽細胞での mTOR 経路の関与を示したものであり、上述のように肺線維症の発症の起点とされている肺胞上皮傷害及び EMT と mTOR 経路の関連についての研究はほとんどなされていない。また、mTOR 経路の関与の証明においても、その殆どが mTOR 阻害薬であるラパマイシンを用いた間接的な mTOR 経路の関与の証明にとどまっており、mTOR の直接的な活性化が肺に及ぼす研究はこれまでにない。

2. 研究の目的

本研究では、恒常的にキナーゼ活性を示す変異型 mTOR を肺上皮特異的に発現するマウスを作出し、肺上皮における mTOR の働きを直接的に解析し、肺線維症マウスモデルを用いて mTOR 活性化が肺線維症の発症に及ぼす影響について検証することを目的とした。また、その分子生物学的機序についても、次世代シーケンスによる網羅的発現解析や細胞実験により検討した。

3. 研究の方法

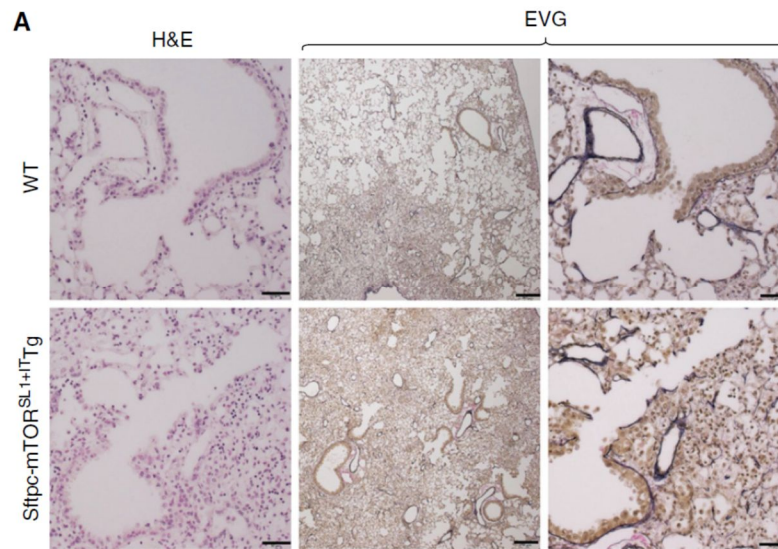
肺上皮特異的に活性化型 mTOR を発現するマウスを作成し、表現型を解析した。プレオマイシンの経気道的投与により、肺の線維化を誘導し、病理学的、生理学的な解析を行った。

4. 研究成果

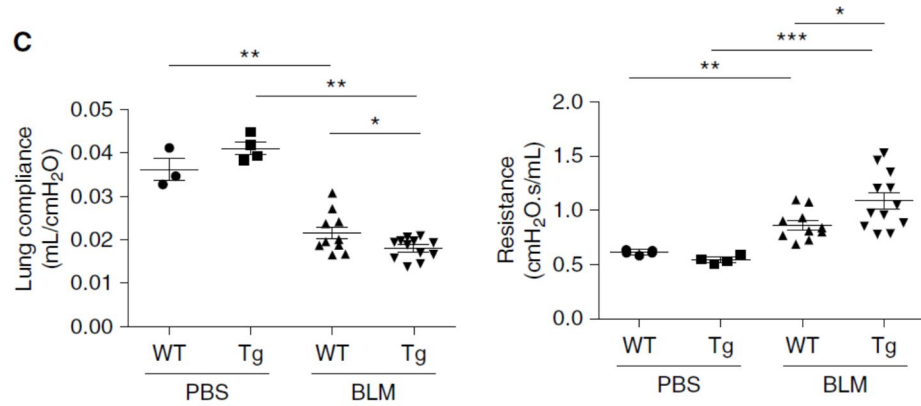
肺上皮特異的活性化型 mTOR マウスでは、プレオマイシンマウスモデルにて、病理学的にも生理学的にも肺線維化の増悪をきたすことが証明された (図 1、2)。また、活性化型 mTOR マウスの肺では、ZO-1 や Cav-1 の発現低下を認めており、タイトジャンクションを介した肺線維症増悪機序への関与が示唆された。また、網羅的発現解析により mTOR 経路下流に位置する ANGPTL4 を見出した。in vitro での解析により、mTOR の活性化及び ANGPTL4 がタイトジャンクション脆弱化及び EMT 促進に関与することを示した (図 3 他)。

以上より、肺上皮細胞における mTOR 経路の活性化は肺線維化を促進する因子であり、また ANGPTL4 が肺線維症の治療ターゲットになり得る可能性が示唆された。

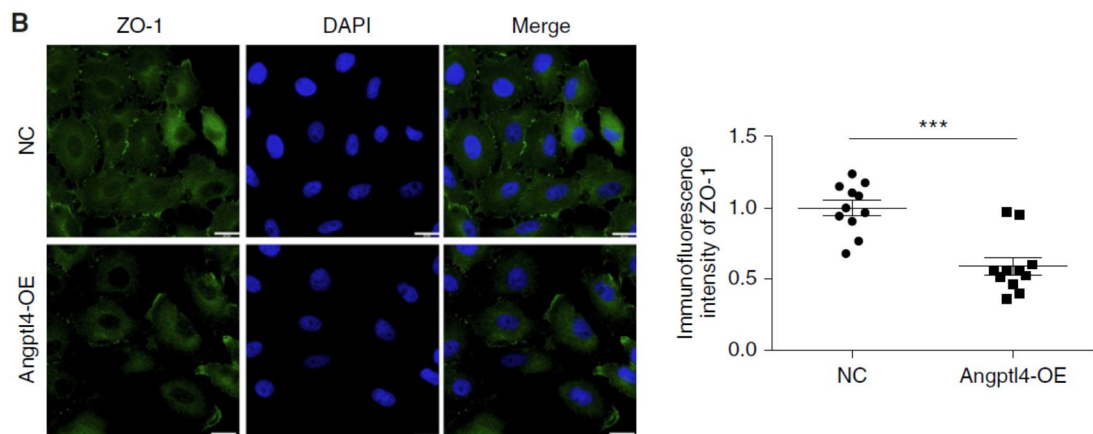
(図 1) 肺上皮特異的活性型 mTOR マウスでは、プレオマイシン投与による肺の線維化が促進



(図 2)



(図 3) A549 細胞にて Angpt14 過剰発現により、接着因子 ZO-1 の発現が低下



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Saito Minako, Mitani Akihisa, Ishimori Taro, Miyashita Naoya, Isago Hideaki, Mikami Yu, Noguchi Satoshi, Tarui Megumi, Nagase Takahide	4. 巻 62
2. 論文標題 Active mTOR in Lung Epithelium Promotes Epithelial?Mesenchymal Transition and Enhances Lung Fibrosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 699 ~ 708
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1165/rcmb.2019-02550C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 M Saito et.al.
2. 発表標題 Mammalian target of Rapamycin enhances fibrosis in lung by promoting epithelial mesenchymal transition
3. 学会等名 European Respiratory Society（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------