

機関番号：34519

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ~2010

課題番号：20590936

研究課題名 (和文) 肺線維症の予防および治療方法の新規開発

研究題名 (英文) novel development research on the prevention and treatment of pulmonary fibrosis

研究代表者

田端 千春 (TABATA CHIHARU)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90432393

研究成果の概要 (和文)：

われわれは現在までにIL-6 依存性肺線維芽細胞増殖やTGF- β_1 依存性肺線維芽細胞形質転化を介する ATRA やサリドマイドによる肺線維症抑制効果について報告してきた。

サイトカインがその発症に大きく関連する関節リウマチ (RA) 患者の関節にカルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインの発現が増強していることに着目し、カルパインと肺の線維化の研究を遂行した結果、カルパインインヒビター・カルペプチン投与によって、ブレオマイシン誘発肺線維症マウスの肺線維化が抑制されることを実証し、そのメカニズムとして、IL-6 誘発肺線維芽細胞増殖抑制・アンギオポイエチン-1 誘発肺線維芽細胞遊走抑制・肺線維芽細胞のコラーゲン産生抑制があることを証明した。

今回の研究結果は肺線維症に対するカルペプチンの臨床応用の可能性を示唆すると考える。

研究成果の概要 (英文)：

We recently reported two substances (ATRA and thalidomide) had preventive effects on pulmonary fibrosis by inhibiting IL-6-dependent proliferation and TGF- β_1 -dependent transdifferentiation of lung fibroblasts. Rheumatoid arthritis is a chronic autoimmune disorder, and its pathogenesis is also characterized by an association with several cytokines. It has been reported that Calpain, a calcium-dependent intracellular cysteine protease, plays an important role in the progression of Rheumatoid arthritis. In this study, we examined the preventive effect of Calpeptin, a calpain inhibitor, on bleomycin-induced pulmonary fibrosis.

Calpeptin histologically ameliorated bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Calpeptin decreased the expression of IL-6, TGF- β_1 , angiopoietin-1, and collagen type I $\alpha 1$ mRNA in mouse lung tissues. In vitro studies disclosed that Calpeptin reduced 1) production of IL-6, TGF- β_1 , angiopoietin-1 and collagen synthesis from lung fibroblasts, and 2) both IL-6-dependent proliferation and angiopoietin-1-dependent migration of the cells, which could be the mechanism underlying the preventive effect of Calpeptin on pulmonary fibrosis.

These data suggest the clinical use of Calpeptin for the prevention of pulmonary fibrosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：非閉塞性肺疾患、肺線維症、呼吸器感染症、その他

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎・肺線維症は肺胞周囲の間質に炎症が起こり、細胞やコラーゲンなどが増加し間質が厚くなり線維化するため、微小血管と肺胞間でのガス交換の障害を認めることにより低酸素血症や高二酸化炭素血症による呼吸不全を呈し、やがて死に至る難治性疾患群である。そのため以前から国内・国外で間質性肺炎・肺線維症に対する治療法の開発に関する研究が盛んに行われているが、未だに臨床応用できる有効な治療法がないのが現状である。

この間質性肺炎・肺線維症には、現在難病指定である原因不明の特発性肺線維症や、主として肺癌患者に施行されている放射線療法による副作用である放射性肺臓炎・肺線維症、リウマチ性疾患や膠原病などの難治性合併症としての膠原病肺・肺線維症、抗がん剤などによる薬剤性肺線維症、アスベスト・石綿による石綿肺・肺線維症などが知られている。しかしいずれにおいても発症した際の治療法としては、現在ステロイド剤や免疫抑制剤が使用されているが、それらには副作用が多くかつ治療の有効性が低いため、最終的に呼吸困難等患者のQOLが低下し、致命的になるケースが多く認められ、その予防および治療法の開発が急務である。

2. 研究の目的

ブレオマイシン誘発性特発性肺線維症マウスモデルにおけるマウス肺の線維化が、マウスへ腹腔内投与された ATRA によって抑制されることを世界で初めて明らかにしてきた。(Tabata C, et al. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 174(12):1352-60, 2006)。

また間質性肺炎・肺線維症では血管新生が促進されていることに着目し、血管新生抑制効果および免疫調節作用をもつサリドマイドの肺線維化に対する影響を検討した結果、肺線維芽細胞は血管新生因子である VEGF および angiopoietin-1 を産生し、サリドマイドはこれらを抑制すること、また ATRA 同様に IL-6 および TGF- β の産生抑制をもたらすこと、そして結果的にブレオマイシン誘発性特発性肺線維症マウスモデルにおいてサリドマイドの肺線維化抑制効果を実証した。(Tabata C, et al. *J Immunol.*; 179(1):708-14, 2007)。

10 万人あたり 16 から 18 人発症する原因不明で難病指定である特発性肺線維症は治療として現在ステロイド剤や免疫抑制剤が使用されているが、有効性が乏しく、進行する呼吸不全のため 5 年生存率が 50 % 以下の予後不良の疾患である。またリウマチ性疾患や膠原病などには難治性合併症として肺線維症が知られており、さらにそれらに対する治療薬やある種の抗がん剤によっても肺線維症が発症するために、臨床的な管理が困難でありその対策が望まれている。

ATRA は急性前骨髄性白血病の治療薬として、またサリドマイドは多発性骨髄腫の治療薬として有効性が高く、いずれも現在臨床の場で実際に経口投与にて使用されておりヒトへの安全性も実証されている。われわれは放射線照射マウスモデルおよび特発性肺線維症マウスモデルにおける ATRA の肺線維症抑制効果、およびサリドマイドの特発性肺線維症マウスモデ

ルにおける肺線維症抑制効果を世界で初めて実証した。以上の結果をもとに、間質性肺炎・肺線維症において ATRA やサリドマイドがヒトへの臨床応用が可能となるよう今後も検討を続けること、さらにわれわれが見出した肺線維症発症に関与する各種サイトカインを調節する他の予防および治療方法の新規開発を目指すことが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) 肺の線維化に対する ATRA やサリドマイドの抑制効果について、実際の臨床応用に向けた詳細な肺線維芽細胞を用いた in vitro 実験と、病態マウスを用いた in vivo 実験 ○ サイトカインの定量 (Real-time RT-PCR や ELISA; IL6, TGF-beta, CTGF, PDGF, VEGF など) ○ コラーゲン産生の定量 (Western blot, Sircol assay) ○ 免疫染色 (alpha-SMA, vimentin, IL6, TGF-beta など) ○ MTT assay などの増殖アッセイ ○ フローサイトメトリーによるサイトカインレセプター発現の定量

(2) 肺の線維化を抑制する他の薬剤の探索 われわれが見出した肺線維症発症に関与する各種サイトカインを調節する他の予防および治療方法の新規開発を目指すことが本研究の目的である。抗線維化効果が期待できる ATRA やサリドマイド以外の薬剤を in vitro 実験等にて探索する。

4. 研究成果

関節リウマチ (RA) 患者の関節にカルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインの発現が増強していることが知られているが、われわれは RA においても肺線維化と同様にサイトカインがその発症に大きく関連するに着目し、カルパインと肺の線維化の研究を遂行した結果、カルパインインヒビター・カルペプチン投与によって、ブレオマイシン誘発肺線維症マウスの肺線維化が抑制されることを実証し、そのメカニズムとして、IL-6 誘発肺線維芽細胞増殖抑制・アンギオポイエチ

ン-1 誘発肺線維芽細胞遊走抑制・肺線維芽細胞のコラーゲン産生抑制があることを証明した。(Tabata C, et al. *Clin Exp Immunol.*)。さらなる検証結果をもとに今後 カルパイン関連の創薬の開発を目指す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1 Tabata C, Tabata R, Nakano T. The Calpain inhibitor Calpeptin Prevents Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice. *Clin Exp Immunol.*, 162: 560-7, 2010. 査読有

2 Tabata C, Hirayama N, Tabata R, Yasumitsu A, Yamada S, Murakami A, Iida S, Tamura K, Fukuoka K, Kuribayashi K, Terada T, Nakano T.

Novel clinical role of angiopoietin-1 in malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J.*, 36: 1099-105, 2010. 査読有

3 Yasumitsu A, Tabata C, Tabata R, Hirayama N,

Murakami A, Yamada S, Terada T, Iida S, Tamura

K, Fukuoka K, Kuribayashi K, Nakano T.

Clinical

significance of serum VEGF in malignant pleural

mesothelioma. *J Thorac Oncol.*, 5: 479-483, 2010. 査読有

4 Tabata R, Tabata C, Omori K, Nagai T.

Disappearing MDS-associated autoimmune hemolytic anemia in leukemic

transformation. *Int Arch Allergy*

Immunol., 152:407-412, 2010. 査読有

5 **Tabata C**, Tabata R, Hirayama N, Yasumitsu A, Yamada S, Murakami A, Iida S, Tamura K, Terada T, Kuribayashi K, Fukuoka K, Nakano T. All-trans-retinoic acid inhibits tumour growth of malignant pleural mesothelioma in mice. *Eur Respir J.*, 34: 1159-1167, 2009. 査読有

6 Tabata R, **Tabata C**, Okamoto T, Omori K, Terada M, Nagai T. Autoimmune Pancreatitis associated with Myelodysplastic Syndrome.

Int Arch Allergy Immunol., 151: 168-172, 2009.

査読有

7 Tabata R, **Tabata C**, Terada M, Nagai T. Hemophagocytic syndrome in elderly patients with underlying autoimmune diseases. *Clin Rheumatol.*, 28:461-464, 2009. 査読有

8 Okashi K, Kubo H, Nagayama S, **Tabata C**, Kadokawa Y, Hisamori S, Yonenaga Y, Fujimoto A, Mori A, Onodera H, Watanabe G, Sakai Y. All-trans-retinoic acid attenuates radiation-induced intestinal fibrosis in mice. *J Surg Res.*, 150: 53-59, 2008. 査読有

9 Hisamori S, **Tabata C**, Kadokawa Y, Okoshi K, Tabata R, Mori A, Nagayama S, Watanabe G, Kubo H, Sakai Y. All-trans-retinoic acid ameliorates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice through modulating cytokine production. *Liver Int.*, 28:1217-1225, 2008.

査読有

[学会発表] (計1件)

1. **Chiharu Tabata**, Rie Tabata, Takashi Nakano All-trans-retinoic acid inhibits tumour growth of malignant pleural mesothelioma in mice. **European Respiratory Society** Sep.19-24、2010 BARCELONA

[その他]

ホームページ等

<http://www.hyo-med.ac.jp/department/rsp/r/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

田端 千春 (TABATA CHIHARU)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90432393

(2)研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3)連携研究者 なし
()

研究者番号：