

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08181

研究課題名（和文）線維細胞におけるインテグリンを標的とした肺線維症に対する新規抗線維化療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel antifibrotic therapy for pulmonary fibrosis targeting integrins in fibrocytes

研究代表者

内藤 伸仁（NAITO, Nobuhito）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：10895931

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）：線維細胞は肺線維症における重要なエフェクター細胞とされる。研究代表者の所属する研究グループは、肺線維細胞の純度がより高い細胞集団のなかでコラーゲンを発現する亜集団において、 $\alpha 9$ インテグリンの発現が亢進していることを見いだした。本研究では、 $\alpha 9$ インテグリンシグナルが線維細胞に果たす役割を明らかにすることを目的とする。マウス肺組織から単離した線維細胞で遊走能を評価したところ、抗 $\alpha 9$ インテグリン抗体を加えた群では遊走細胞数が少なかった。 $\alpha 9$ インテグリンが結合するドメインを含むフィブロネクチンで線維細胞を刺激しコラーゲンや液性因子の発現に与える影響を評価したところ、発現に変化はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

$\alpha 9$ インテグリンシグナルが線維細胞の遊走を制御し、肺線維症の病態形成にかかわる可能性が示唆された。線維細胞の機能抑制法の新たな基盤を創出し、新たな分子標的抗線維化薬の開発への展開につながるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：Fibrocytes are considered to be important effector cells in pulmonary fibrosis. The research group to which the principal investigator belongs found that expression of $\alpha 9$ integrin was increased in a subpopulation expressing collagen among a cell population with a higher purity of pulmonary fibrocytes. In this study, we aimed to clarify the role that $\alpha 9$ integrin signaling plays in fibrocytes. When the migration ability of fibrocytes isolated from mouse lung tissue was evaluated, the number of migrating cells was reduced in the group to which anti- $\alpha 9$ integrin antibody was added. When fibrocytes were stimulated with fibronectin, which contains a domain to which $\alpha 9$ integrin binds, and the effect on the expression of collagen and humoral factors was evaluated, there was no change in expression.

研究分野：呼吸器・膠原病内科

キーワード：肺線維症 線維細胞 インテグリン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症 (IPF) をはじめとした間質性肺疾患は、経時的に線維化が進行し、最終的に不可逆かつ高度の拘束性換気障害および肺拡散能障害を呈する予後不良の疾患である。

近年、肺線維症における新たなエフェクター細胞として線維細胞の存在が報告された。線維細胞は骨髄由来の CD14 陽性単核細胞より分化し、高い抗原提示能を持つと同時に細胞外マトリックスの産生能を有する間葉系前駆細胞とされる。一方で、線維芽細胞に分化する能力ももつとされている (Reilkoff et al. Nat Rev Immunol. 2011)。

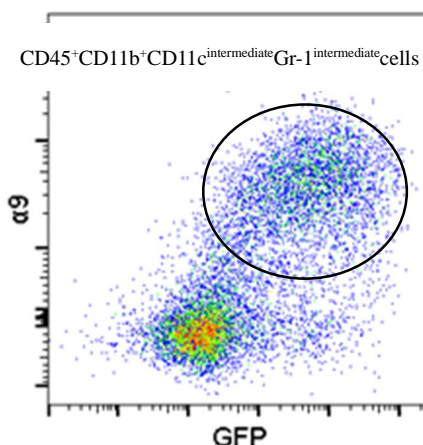
研究代表者の所属する研究グループは、線維細胞は細胞外マトリックスのみならず、線維芽細胞増殖因子 (Fibroblast growth factor: FGF) や血小板由来増殖因子 (Platelet derived growth factor: PDGF) などの液性因子産生を介して肺常在線維芽細胞の機能増強に働く可能性を報告した (Abe et al. Am J Respir Crit Care Med. 2012)。また PDGF 受容体、FGF 受容体、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) 受容体を主な標的としたマルチチロシキナーゼ阻害薬であるニンテダニブが、線維細胞の遊走や分化を抑制するとともに、それらの液性因子産生の抑制を介して抗線維化作用を発揮することを報告した (Sato et al. Respir Res. 2017)。

一方で、線維細胞の特異的な細胞表面マーカーはいまだ同定されていない。研究代表者の所属する研究グループは、プレオマイシンを投与した collagen I ()2-green fluorescent protein (Col-GFP) レポーターマウス肺由来 CD45⁺CD11b⁺CD11c^{intermediate}Gr-1^{intermediate}GFP⁺細胞集団が、肺線維細胞を高純度を含むことを見いだした (Kawano H, Naito N, et al. Immun Inflamm Dis. 2021)。さらに同細胞集団を一細胞 RNA-seq を用いてクラスタリングしたところ、コラーゲン発現がみられる亜集団で、 $\alpha 9$ インテグリンの発現が亢進していることを見いだした。

$\alpha 9$ インテグリンは、細胞接着や遊走、分化、増殖といった種々の細胞プロセスに関与する膜貫通型受容体で、オステオポンチン (OPN) やテネイシン C などをリガンドとし、線維芽細胞にも発現している (Uede. Pathol Int. 2011)。肝硬変患者では切断型オステオポンチン (Thr-OPN) の血漿レベルが高く、肝線維症モデルマウスでは Thr-OPN のレベルと線維化の程度が相関する。また活性化された肝星細胞では $\alpha 9$ インテグリン発現の亢進もみられ、抗 $\alpha 9$ インテグリン抗体により肝星細胞における平滑筋アクチンやコラーゲン a の発現が抑制される (Cui et al. J Cell Physiol. 2019)。一方で肺線維症モデルマウスにおいて、活性化された線維芽細胞では OPN の発現が亢進しており、OPN は線維芽細胞の線維化領域への遊走を促進する作用がある (Tsukui et al. Am J Pathol. 2013)。

上記背景から、 $\alpha 9$ インテグリンは線維芽細胞のみならず、線維化病態に関わる種々のエフェクター細胞にも発現しており、加えて研究代表者の所属する研究グループは、線維細胞にも $\alpha 9$ インテグリンの発現が亢進している亜集団が存在することを見いだした。(未発表データ、図 1)。

図 1 プレオマイシン (+)



2. 研究の目的

線維細胞における $\alpha 9$ インテグリンの機能と肺線維症の病態形成との関わりを検討することで、 $\alpha 9$ を含めたインテグリンシグナルが線維細胞に果たす役割を明らかにする。さらに、線維細胞の機能抑制法の新たな基盤を創出することにより、新たな分子標的抗線維化薬の開発に展開することを視野に研究を進めることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) $\alpha 9$ インテグリンシグナルが線維細胞に及ぼす影響についての検討

マウス肺組織からフィブロネクチンでコーティングしたディッシュを用いて線維細胞を単離する。遊走能について、遊走因子として PDGF を使用し transwell migration assay を行い、抗 $\alpha 9$ インテグリン抗体を加えた場合の阻害効果を評価した。液性因子やコラーゲン産生能について、 $\alpha 9$ インテグリンが結合するドメインを含むフィブロネクチンで線維細胞を刺激し、コラーゲンや液性因子の発現に与える影響を RT-PCR を用いて評価した。

4．研究成果

遊走能について、アイソタイプコントロール抗体を加えた群を対照として抗 α 9 インテグリン抗体の阻害効果を評価したところ、抗 α 9 インテグリン抗体を加えた群で遊走細胞数が有意に減少することを見いだした。液性因子やコラーゲン産生能について、 α 9 インテグリンが結合するドメインを含むフィブロネクチンで線維細胞を刺激しても、Col1a1・PDGF-B・TGF- β の発現に影響はなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------