

令和 7 年 6 月 9 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K08265

研究課題名（和文）劇症型間質性肺炎における気管支上皮細胞の病理学的機能の解明と新規治療の開発研究

研究課題名（英文）Elucidation of the Pathological Functions of Bronchial Epithelial Cells and Development of Innovative Therapies for Acute Interstitial Pneumonia

研究代表者

田中 彩絵（Tanaka, Ayae）

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：30743067

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は様々な原因で発症する急性進行性間質性肺疾患（RP-ILD）に共通する病理メカニズムとして推定される気道上皮細胞免疫系ネットワークについて気道上皮細胞の病理的意義と2本鎖RNA編集酵素ADAR1機能的役割の解明を目的とし、野生型(WT)マウスおよび気道上皮特異的Adar1欠損(CC10-Adar1-ck0)マウスを用いてプレオマイシン誘導IPFモデルについて解析した。その結果、ILDの病態に気道上皮細胞が関与しており、Adar1の機能低下により炎症非依存性IPFの増悪に関与することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はIPFや感染症で発症するRP-ILDの病態に対するII型肺胞上皮細胞とClub細胞の病理的意義の解明を目的とした。我々が樹立したCC10-Adar1-ck0マウスを用いてILDモデルを解析し、気道上皮細胞を介したILDの病態とADAR1機能の関係を初めて示した。今後、本研究を発端として劇症型ILDの難治化病態に共通する新たな核心的病態概念を見出すことが十分に期待される。さらに、劇症型ILDに対する根治的治療の開発に本研究の成果が応用される可能性がある点において社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the pathological significance of bronchial epithelial cells and the functional role of the double-stranded RNA-editing enzyme ADAR1 in the airway epithelium immune system network, which is presumed to be a common pathological mechanism underlying rapidly progressive interstitial lung diseases (RP-ILD) of various etiologies. Using wild-type (WT) mice and airway epithelial cell-specific Adar1-deficient mice (CC10-Adar1-ck0), we analyzed a bleomycin-induced model of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). Our findings demonstrated that bronchial epithelial cells contribute to the pathogenesis of ILD, and that ADAR1 dysfunction exacerbates inflammation-independent progression of IPF.

研究分野：リウマチ学

キーワード：間質性肺炎

1. 研究開始当初の背景

原因不明の特発性間質性肺炎や膠原病に伴う間質性肺炎 (ILD) の中で肺炎線維症 (IPF) は有効な根治療法がなく、特に IPF の急性増悪による急速進行性 (RP)-ILD は予後不良である。同様に抗 MDA5 抗体陽性皮膚筋炎 (DM) や顕微鏡的多発血管炎 (MPA)、さらに最近、問題となっている COVID-19 で発症する RP-ILD も劇症型で予後不良である。それぞれの RP-ILD について特異的な病態が示唆されるが、発症機序は十分に明らかでない。

肺胞・気道上皮細胞は、繊維芽細胞など種々の肺構成細胞との相互作用により、組織特異的炎症と免疫反応の統合的制御を中心的に担うことが示唆されている。特に、呼吸器系上皮細胞から産生される多彩なサイトカイン・ケモカインは様々な呼吸器疾患の病態に深く関わると考えられている。ILD の進展機構として、肺胞上皮細胞や基底細胞が何らかの傷害を受けた後の治癒修復過程で、肺線維芽細胞の増殖と細胞外マトリックスの過増生による組織の異常再構築が線維化を生じることが指摘されている。その後、修復や再生の障害を生じた II 型肺胞上皮細胞と肺線維芽細胞など間葉系細胞間の機能的均衡の破綻により線維化が進む負のスパイラル形成が考えられており、ILD の病態に II 型肺胞上皮細胞の機能は極めて重要であることが示唆されている。一方、気管支上皮細胞の中で Club 細胞は様々な炎症に対する抗炎症および免疫調節機能を有し、細気管支上皮の維持や傷害時に基底細胞へと脱分化して組織修復に寄与している。さらに細気管支と肺胞移行部に存在する Club 細胞は細気管支肺胞幹細胞として気管支上皮細胞と肺胞上皮細胞の両方の再生能をもつ前駆細胞でもあることが報告されている。Club 細胞の機能異常は様々な難治性肺疾患の病態に深く関与することが示唆されているが、ILD における病理的役割は不明である。

ADAR1 は RNA 編集 (塩基修飾) による microRNA のプロセッシング制御を介して RNA サイレンシングに関与すると考えられている。また、ADAR1 は免疫系を含む多様な系統の細胞において、分化制御やストレス応答時のアポトーシス抑制など、多彩な生体防御機能を担っている。さらに、ウイルスセンサーである MDA5 は樹状細胞やマクロファージに発現し、外来性二本鎖 RNA を認識して I 型 IFN をはじめとする多彩なサイトカインの産生を誘導し、ウイルス排除に寄与する。この過程において、ADAR1 は自己 RNA を編集することで MDA5 による誤認識を回避し、RNA ウイルス感染時に生じ得る自己細胞傷害からの防御に関与することが知られている。一方、抗原提示細胞における ADAR1 の機能不全は、MDA5 の過剰な活性化を介して免疫応答が過剰に誘導され、自己免疫性疾患の発症に関与する可能性が示唆されている。ADAR1 は免疫系細胞に限らず、気道上皮細胞にも発現するが、これら非免疫系細胞における機能的役割については十分に明らかにされていない。近年、気道上皮細胞が多彩なサイトカインやケモカインを産生し、免疫系血球細胞の遊走や活性化を制御することで、感染防御やアレルギー性炎症の制御に関与していることが報告されている。気道上皮細胞は、生体防御や肺組織の恒常性維持において中心的な役割を果たす一方で、その機能異常や局所免疫調節機構の破綻は、呼吸器疾患の病態形成に深く関与する可能性がある。RP-ILD は多様な原因によって発症し、特に劇症型においては極めて予後不良であるが、現時点で有効かつ根治的な治療法は確立されていない。そこで本研究では、新規治療法の開発を見据え、気道上皮細胞における ADAR1 機能異常が劇症型 RP-ILD の病態形成にいかに関与し、どのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。これは当該分野において、今後の病態理解と治療戦略構築に資する重要な学術的課題であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は自己免疫疾患やウイルス感染症に合併する重症難治化のILDや肺炎および肺出血など劇症型肺炎に共通する病理メカニズムの解明を目的とする。そのために遺伝子改変マウスを用いた疾患モデルの解析を中心とした基盤研究を行う。そして、劇症型肺炎の病態に重要な役割を果たすと考えられる気道上皮細胞による病態制御機構の解明と新規の根治的治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

Club細胞の役割および相互的役割におけるADAR1の機能を明らかにするために、野生型マウス、CC10-*Adar1*-cKOマウスを用いて難治性ILDモデルとしてブレオマイシン誘導肺線維症モデルモデルを作製して解析した。

- (1) IPFモデルにおける気道上皮細胞ADAR1の機能解析：劇症型肺炎を誘導するために自然免疫系細胞活性化を目的に長鎖PolyI:C(2本鎖RNA)をブレオマシンのと共に各マウスに対して10日毎に1回、合計3回経気道的投与した。その後に肺組織の病理組織学的解析を行った。
- (2) コラゲナーゼ処理による肺由来の分散細胞についてマクロファージサブセット(肺泡/間質性マクロファージ)、T細胞サブセット、B細胞、NK細胞、好中球、好酸球、自然リンパ球サブセットについてFACS法で解析した。
- (3) ILDモデル肺をコラゲナーゼ処理した後、セルソーターで分取した気道上皮細胞およびT細胞についてRNAシーケンズ解析を行った。

4. 研究成果

- (1) cKOマウスでは、肺組織の線維化がWTマウスと比較して増強していた一方で、好中球の細胞浸潤はむしろ減弱傾向を示した。
- (2) コラゲナーゼ処理によって得られた肺由来の単一細胞懸濁液をFACS解析した結果、cKOマウスではWTマウスに比べて肺組織内のマクロファージ総数が増加した。しかし、Ly6c陽性の炎症性単球由来肺泡マクロファージおよび炎症性III型間質性マクロファージは減少し、代わって抗炎症性かつ線維化誘導性のII型間質性マクロファージが増加していた。なお、好中球、好酸球、自然リンパ球サブセットについては有意な変化は認められなかった。
- (3) 肺炎発症後の肺組織において、気道上皮細胞およびCD4・CD8 T細胞のRNAシーケンズ解析を行った結果、cKOマウスの気道上皮細胞では、WTマウスと比べて炎症性ケモカイン(CCL1, CCL2, CXCL1, CXCL2, CXCL3など)の発現低下が認められた。一方、cKOマウス由来CD4 T細胞では、II型およびIII型サイトカインの産生に有意差はなかったものの、IL-4およびIL-13遺伝子の発現は上昇していた。

以上の結果から、気道上皮細胞がILDの病態形成に関与しており、ADAR1機能の低下がIPFの進行や増悪に関与することが示唆された。現在、さらなる解析として、細胞特異的な発現変動遺伝子のプロファイリング、パスウェイ解析、遺伝子および細胞レベルでのクラスタリング解析を統合的に進めており、気道上皮細胞のADAR1が直接・間接的に制御するmRNAの同定を目指している。これにより、肺炎の難治化・劇症化に関与する関連遺伝子の発現特性を明らかにし、気道上皮細胞およびADAR1の病理学的意義の解明を進めている。さらに、cKOマウスにおけるCD4+T細胞やマクロファージと気道上皮細胞の遺伝子発現動態の比較解析が進行中である。これにより、劇症型ILDにおける構成的妥当性を有する病態メカニズムを遺伝子・タンパク質・細胞レベルで同定し、病原分子を新規分子標的治療の開発に応用することを目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hiyama Tomoka, Kurasawa Kazuhiro, Hasegawa Anna, Miyao Tomoyuki, Tanaka Ayae, Arai Satoko, Arima Masafumi, Maezawa Reika	4. 巻 23
2. 論文標題 Differences and similarities in cytokine profiles of macrophage activation syndrome in systemic lupus erythematosus and adult-onset Still's disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 3407 ~ 3416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10238-023-00988-4	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Ayae, Kurasawa Kazuhiro, Soda Sayo, Takamura Yuta, Miyao Tomoyuki, Hasegawa Anna, Hiyama Tomoka, Yamazaki Ryutarō, Arai Satoko, Owada Takayoshi, Arima Masafumi, Arakawa Hiroaki, Maezawa Reika	4. 巻 61
2. 論文標題 Changing patterns of pulmonary abnormalities in rheumatoid arthritis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 27 ~ 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.resinv.2022.09.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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 田中彩絵
2. 発表標題 ADAR1 in bronchial epithelial cells is involved in the airway mucosal immune system in a mouse model of asthma
3. 学会等名 日本免疫学会（国際学会）
4. 発表年 2022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
研究分担者	有馬 雅史 (Arima Masafumi) (00202763)	獨協医科大学・医学部・教授 (32203)	
研究分担者	倉沢 和宏 (Kurasawa Kazhiro) (30282479)	獨協医科大学・医学部・特任教授 (32203)	
研究分担者	大和田 高義 (Owada Takayoshi) (30456016)	獨協医科大学・医学部・講師 (32203)	

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