

令和元年6月26日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06807

研究課題名(和文) COPDにおける細気管支幹細胞群の機能低下に起因する末梢気道病変の検討

研究課題名(英文) Dysfunction of bronchiolar stem cells in the pathogenesis of COPD

研究代表者

田辺 直也 (TANABE, NAOYA)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：30805817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：気道上皮構成細胞が慢性閉塞性肺疾患(COPD)の末梢気道病変に与える影響について、COPD肺組織と非COPD肺組織を用いて解析した。結果、基底細胞やクラブ細胞などの末梢気道上皮細胞の数には差を認めなかったが、COPDの末梢気道上皮細胞におけるアンチプロテアーゼ発現の低下と、プロテアーゼ活性の増強が示された。このプロテアーゼ活性増強は、末梢気道壁のリモデリングと関連していた。また喫煙暴露マウスを用いた検討においても、アンチセリンプロテアーゼ阻害薬が末梢気道病変形成を抑制することが示された。以上より、アンチプロテアーゼがCOPDの末梢気道病変を制御しうる新規治療薬となる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は日本および世界において罹患率の高い呼吸器疾患であり、死因の上位に含まれ、また病態の悪化によるCOPD増悪は医療費高騰の要因ともなるため社会手続にも重要な疾患である。残念ながら既存の気管支拡張薬などの治療は症状緩和には有効であるが、疾患の進行を抑制する効果に乏しい。本検討の結果、COPDの主病態である末梢気道病変にプロテアーゼ活性増強が関与することが明らかにされた。プロテアーゼ活性を制御しうるアンチプロテアーゼのCOPD治療薬としての可能性に関して、より一層の検討が期待される。

研究成果の概要(英文)：The present researches using human lung tissues from patients with COPD and control smokers investigated whether distribution of specific airway epithelial cells such as basal cells and club cells and/or their dysfunction could affect the pathogenesis of the small airway disease in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The results showed that although the distribution of airway epithelial cells did not differ between COPD and controls, protease and anti-protease imbalance was greater in COPD than control. Furthermore, the enhanced protease activity in the airway epithelium was closely associated with the remodeling of the airways. These findings suggest the potential of anti-protease supplementation for a novel therapeutic of COPD.

研究分野：呼吸器疾患

キーワード：慢性閉塞性肺疾患 COPD 気道上皮 プロテアーゼ

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は不可逆的な気流閉塞を主たる病態とする。閉塞の病理学的主座は末梢気道であり破壊とリモデリングを呈する。長年の経過により線維化リモデリングを呈する膜性細気管支と、破壊を伴う末梢の呼吸細気管支領域を認め、この対極的な病理学的変化は両者の移行部である終末細気管支においては複雑に混在する事から、疾患発症に重要な初期所見として近年注目されている。気道は喫煙や大気汚染など様々な外来因子による侵襲を絶え間なく受けるため、傷害された上皮構造の修復を司る機構が存在する。修復過程において、上皮幹細胞は周囲の間葉系細胞と相互作用しながら増殖、分化し上皮バリアを再構築する。動物実験より基底細胞とクラブ細胞が上皮幹細胞と考えられており、両者の分布様式は中枢から末梢気道にむかって変化する。膜性細気管支では基底細胞が増殖後にクラブ細胞、線毛上皮細胞に分化し修復を担う。一方、呼吸細気管支では基底細胞は存在せず、クラブ細胞が豊富なため、膜性細気管支とは異なる修復機序が予想されるがヒトでは不明である。

### 2. 研究の目的

COPD 肺の終末細気管支を含む末梢気道における気道上皮構成細胞の分布様式や機能不全が、末梢気道の壁肥厚（リモデリング）や気道壁に付着する肺胞壁（肺胞アタッチメント）の破壊を決定する因子となりうるか、ヒト肺組織と COPD モデルマウスを用いて検証する。さらに、末梢気道の病理表現型と末梢気道上皮構成細胞の異常を結びつける因子を同定し、COPD の末梢気道病変を制御しうる新規治療標的を探索することを目的とした。

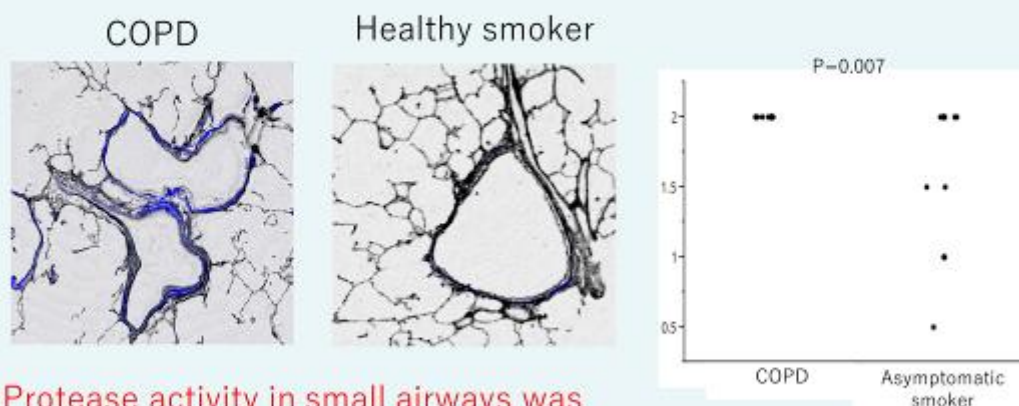
### 3. 研究の方法

- ① 京都大学呼吸器内科における組織バンクに存在する、肺癌などの腫瘍性疾患にて外科的に切除された正常肺と重症度が判定できる COPD 肺組織を用いて、細気管支の上皮構成細胞を免疫組織化学手法にて定量化した。
- ② 細気管支領域がリモデリングをきたす要因についてプロテアーゼ、アンチプロテアーゼに着目し、組織切片上の局所におけるプロテアーゼ活性を可視化する方法を確立し、評価した。
- ③ COPD 肺の ex vivo 培養（Precision Cut Lung Slice 法）を確立するための前段階として、マウスの lung slice 培養を確立した
- ④ COPD マウスモデルの末梢気道病変において、プロテアーゼ活性とアンチプロテアーゼ発現を構成細胞毎に定量化し、気道壁肥厚（リモデリング）や肺胞アタッチメントの破壊との関連を評価した。その後、主要な末梢気道病変表現型がアンチプロテアーゼ阻害薬投与実験により変化しうるのか検討した。

### 4. 研究成果

- ① 細気管支の上皮構成細胞が COPD の末梢気道病変に与える影響について、COPD 肺組織と非 COPD 肺組織を用いて解析した。結果、基底細胞やクラブ細胞などの末梢気道上皮構成細胞の数には差を認めなかった。
- ② しかし、COPD の末梢気道上皮細胞においてアンチプロテアーゼ発現が低下していることが免疫組織化学法により明らかにされた。さらに、組織切片上の局所におけるプロテアーゼ活性を可視化する方法を確立した。COPD と正常肺を比較した結果、COPD 肺

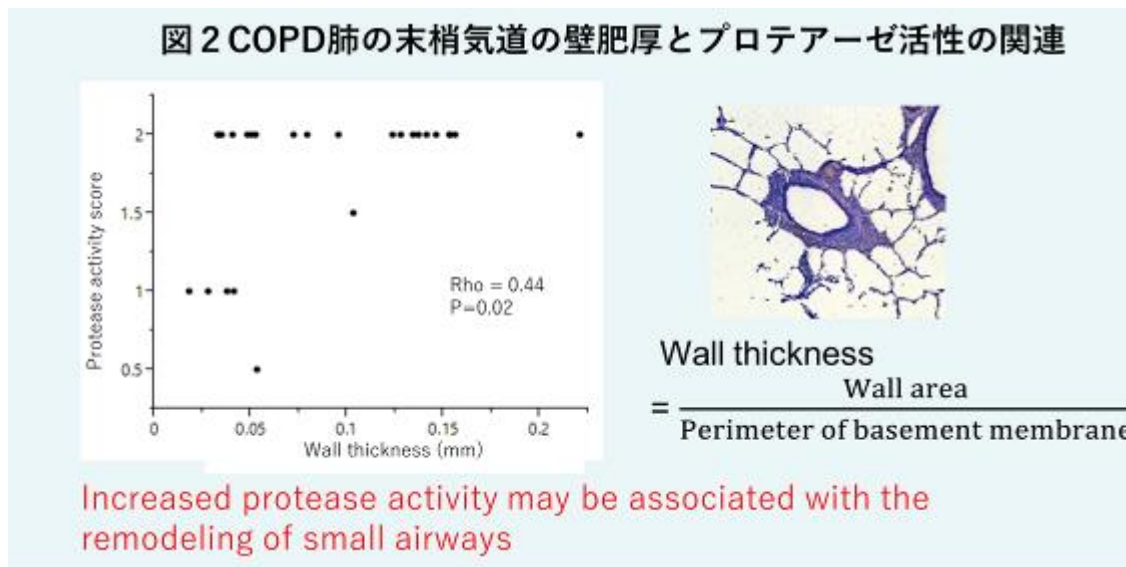
図1. COPD肺組織と非COPD肺組織の末梢気道におけるプロテアーゼ活性の比較



Protease activity in small airways was enhanced in COPD.

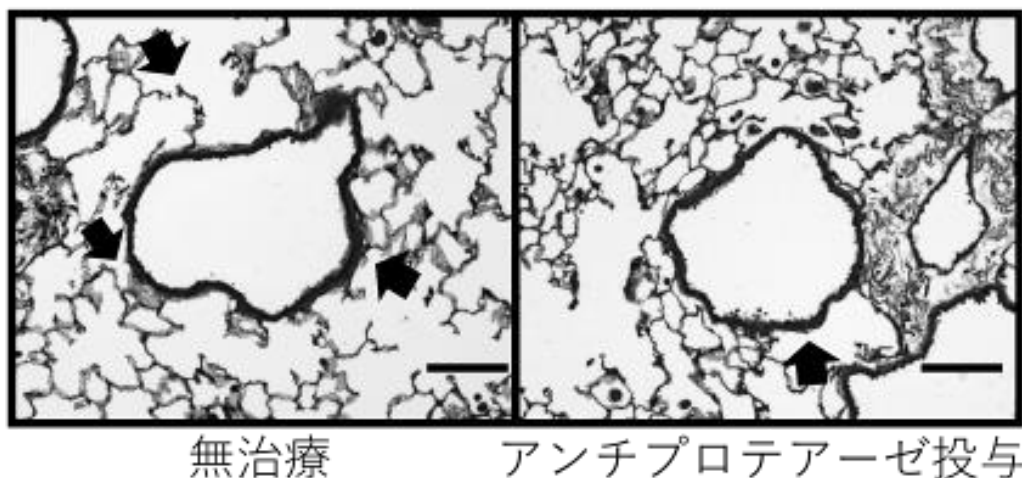
の末梢気道ではプロテアーゼ活性が正常肺に比べて増強していることが明らかにされた (図1)。

このプロテアーゼ活性増強が気道壁の肥厚とも関連することも示された (図2)。以上により、COPD 肺における末梢気道病変の発症、進展にプロテアーゼ、アンチプロテアーゼ不均衡にともなうプロテアーゼ活性増強が関与することが示された。



- ③ マウスの lung slice 培養を確立し、気道収縮物質であるアセチルコリン (カルバコール) を投与すると気道収縮を再現できることを示した。このモデルにエラスターゼ処理を追加すると、気道収縮がより増強することも見出した。今後、ヒト COPD 肺を用いた lung slice 培養を行う予定である。
- ④ 末梢気道上皮におけるアンチプロテアーゼ活性の減弱が、末梢気道病変の発症に関与しているかを検証するために、喫煙暴露刺激に対するアンチプロテアーゼ応答の乏しい C/EBP $\alpha$  ノックアウトマウスを用いた検討を行った。無治療の喫煙暴露 C/EBP $\alpha$  ノックアウトマウスと比較し、アンチセリンプロテアーゼを投与しながら喫煙暴露を継続した C/EBP $\alpha$  ノックアウトマウスでは、COPD 末梢気道病変の指標のひとつである肺胞アタッチメントの破壊が抑制されることが示された (図3)。

**図3. COPDモデルマウスにおけるアンチプロテアーゼの肺胞アタッチメント破壊抑制効果**



以上、①～⑤の検討により、アンチプロテアーゼ発現不良によるプロテアーゼ活性増強が COPD の末梢気道病変の病態形成に重要であることが示された。アンチプロテアーゼの COPD 新規治療薬としての可能性を示す重要な結果であり、創薬にむけてのより一層の検討が望まれる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 1 件）

1. Tanabe N, Sato A, Mizutani T, et al. Protease anti-protease imbalance and small airways disease in COPD. Eur Respir J 2018; 52: Suppl. 62, PA4256  
European Respiratory Society (ERS) International Congress (Paris in 2018)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8 桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。