

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17897

研究課題名(和文) 関節リウマチに伴う間質性肺炎の病態解明と新規治療開発

研究課題名(英文) Investigation of pathogenesis and new therapeutic strategy for interstitial lung disease associated with rheumatoid arthritis

研究代表者

村岡 成 (Muraoka, Sei)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：40648052

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)：関節リウマチ患者の肺病理組織において、フラクタルカイン(FKN)とその受容体であるCX3CR1の発現を確認した。次いで、関節炎と間質性肺炎を発症するSKGマウスを用いて抗FKN抗体による間質性肺炎に対する抑制効果を解析した。抗FKN抗体は、SKGマウスの間質性肺炎を抑制しなかった。抗FKN抗体は、SKGマウス肺胞洗浄液中の白血球、Tリンパ球、Bリンパ球、マクロファージの細胞数を変化させなかった。しかし、抗FKN抗体は肺胞洗浄液中マクロファージのうち、主に炎症に関与するM1マクロファージを低下させた。これらの結果より、FKNは間質性肺炎の病態に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺炎はしばしば関節リウマチに合併し、主要な死亡原因である。さらに、間質性肺炎の治療は確立していないうえに、副作用の観点から従来の抗リウマチ薬の使用が制限されることが多い。そのため、間質性肺炎を合併した患者に対しても安全で効果的な治療が期待されている。本研究はFKNが間質性肺炎の病態に関与していることを示したものであり、今後のより良い間質性肺炎合併関節リウマチ患者の治療開発に役立つ。

研究成果の概要(英文)：The expression of fractalkine (FKN) and its receptor, CX3CR1, was confirmed in lung tissue of patients with rheumatoid arthritis. We then analyzed the inhibitory effect of anti-FKN antibody on interstitial pneumonia using SKG mice that develop arthritis and interstitial pneumonia. The anti-FKN antibody did not attenuate the interstitial pneumonia in SKG mice. Anti-FKN antibody did not change the cell numbers of leukocytes, T lymphocytes, B lymphocytes, and macrophages in alveolar lavage fluid of SKG mice. However, anti-FKN antibody decreased the number of M1 macrophages, which are mainly involved in inflammation, among macrophages in alveolar lavage fluid. These results suggest that FKN is involved in the pathogenesis of interstitial pneumonia.

研究分野：膠原病学

キーワード：関節リウマチ 間質性肺炎 フラクタルカイン マクロファージ SKGマウス

### 1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(**RA**)は自己免疫異常を背景とした原因不明の慢性炎症性疾患である。**RA**における間質性肺炎(**RA-ILD**)は、**RA**の**19-57%**と高頻度に合併し、**RA**の主要な死亡原因である。生物学的製剤などの出現により劇的な治療の進歩を来した現在においても、**RA-ILD**の治療は依然として確立されていない。ステロイドが頻用されているが、その効果は限定的である。さらに、重篤な呼吸器感染症は既存の肺病変を有する**RA**で多く、ステロイド投与によりさらに感染症が増加するため、**RA-ILD**の新規治療開発が期待されている。

フラクタルカイン(**fractalkine: FKN (chemokine (C-X3-C) motif ligand 1)**)は**RA**との関連性が注目されているケモカインである。本研究グループでは、**RA**における**FKN**に早くから着目し、**RA**の病態形成との関連を報告してきた。**FKN**と、その受容体である**CX3CR1**は**RA**滑膜組織に発現していることを見出した。さらに、抗**FKN**抗体は関節炎モデルマウスの関節炎を抑制することを報告した。これらの研究成果が結実し、現在抗**FKN**抗体による**RA**に対する臨床試験が行われている。さらに、当教室では、プレオマイシン誘導間質性肺炎モデルマウスに対して**FKN**阻害の効果を解析し、肺コラーゲン産生の低下を見出した。

### 2. 研究の目的

**FKN**は**RA**において、滑膜組織への細胞浸潤や血管新生の亢進などを介して病態形成に深く関与している。**RA-ILD**における**FKN**の関与、およびその阻害による効果を解明することを目的として多角的に検討した。関節炎と間質性肺炎を発症する**SKG**マウスを用いて**FKN**阻害による間質性肺炎に対する抑制効果を解析する。本研究は**RA-ILD**における**FKN**の作用を明らかにするものであり、治療につながることを期待できる。

### 3. 研究の方法

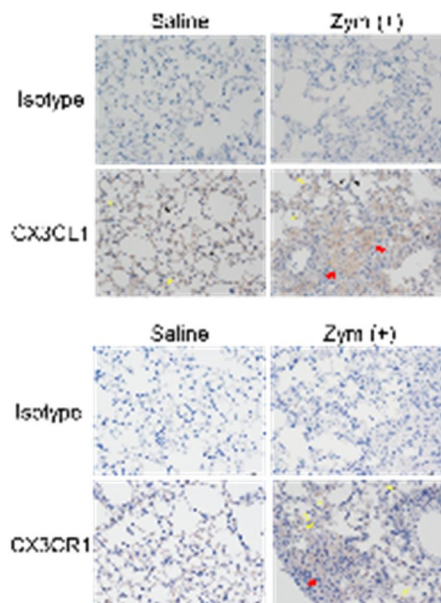
**RA-ILD**の肺病理組織を用いて、**RA-ILD**における**FKN**、**CX3CR1**発現について免疫染色を行い解析する。

**8**週齢の**SKG**マウスに**Zymosan**を腹腔内投与し、**12**週後の肺組織を検討した。**HE**染色、マッソントリクローム染色で肺組織を評価した。また、肺組織における**FKN**、**CX3CR1**の発現を免疫組織化学染色で解析した。さらに、**Zymosan**に加えて**2**週間ごとに抗**FKN**抗体を腹腔内投与に投与し、**12**週後の間質性肺炎への影響を同様に解析した。次いで、**SKG**マウス肺胞洗浄液中の細胞サブセットをフローサイトメトリーで計測し、抗**FKN**抗体の影響も解析した。さらに、肺胞洗浄液中マクロファージの**CX3CR1**発現を解析した。

### 4. 研究成果

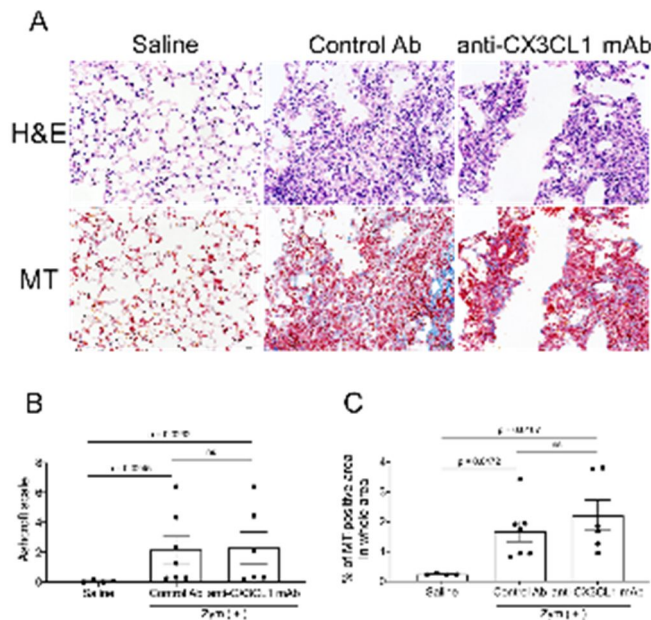
まず、**RA-ILD**の肺病理組織において、**FKN**と**CX3CR1**の発現を確認し、次いで**SKG**マウスを用いて**FKN**の影響を解析することとした。

図 1



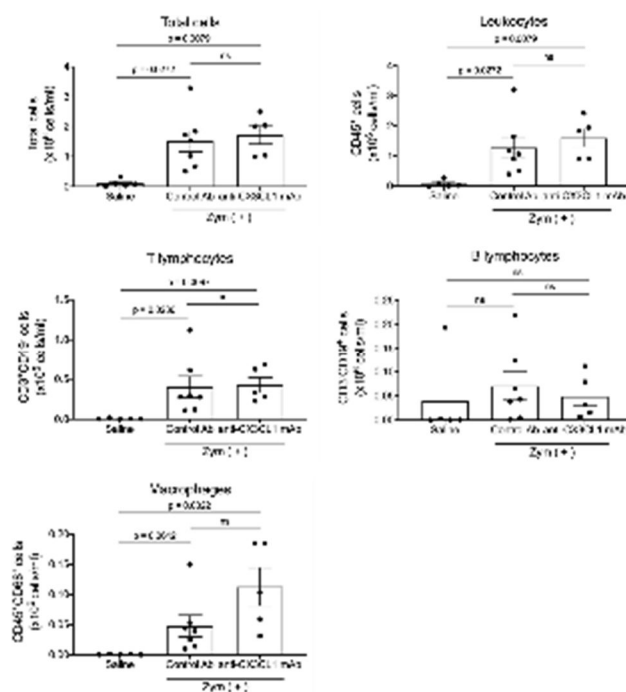
**SKG** マウスに **Zymosan** を投与することにより、間質性肺炎が誘導され、肺組織における **FKN**、**CX3CR1** 発現が増加した (図 1)。一方で、生食投与を行った **SKG** マウスには間質性肺炎は誘導されなかった。

図 2



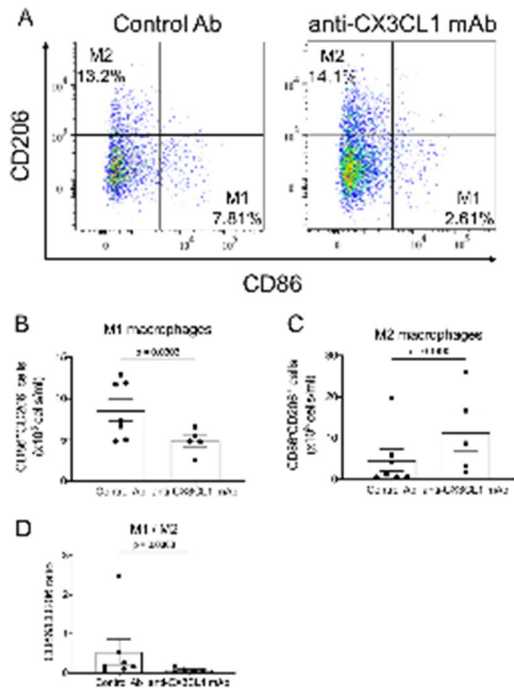
**Zymosan** により誘導された間質性肺炎において、抗 **FKN** 抗体は細胞浸潤、線維化ともに有意な組織学的な変化を認めなかった (図 2)。

図 3



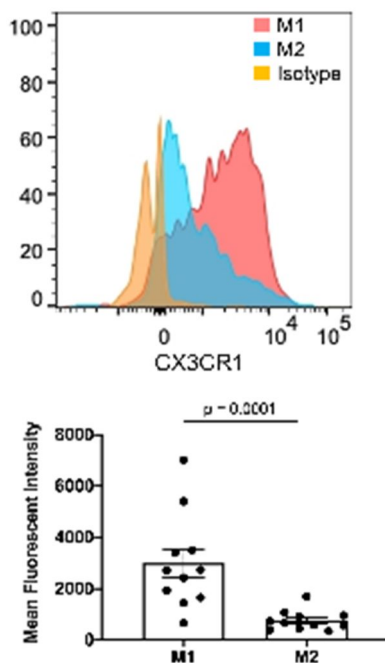
次いで、**SKG** マウス肺胞洗浄液に対する抗 **FKN** 抗体の影響を解析した。抗 **FKN** 抗体は、**SKG** マウス肺胞洗浄液中の白血球、**T** リンパ球、**B** リンパ球、マクロファージの細胞数を変化させなかった (図 3)。

図 4



マクロファージは、間質性肺炎の進展に関わる主要な細胞であり、さらに **M1** と **M2** の 2 つのサブセットに分類される。**M1** マクロファージは間質性肺炎の初期の炎症に関わっており、**M2** マクロファージは線維化に関与しているとされている。そこで、抗 **FKN** 抗体がそれぞれのサブセットに及ぼす影響を解析した結果、抗 **FKN** 抗体は **M2** マクロファージのマクロファージのサブセットである **M1/M2** 比を低下させた (図 4)。

図 5



肺胞洗浄液中マクロファージの **CX3CR1** 発現を解析したところ、**M1** マクロファージが **M2** マクロファージより **CX3CR1** 発現が有意に高かった (図 5)。

以上より抗 **FKN** 抗体は、**SKG** マウスの肺線維化を抑制しなかったが、炎症に関与する **M1** マクロファージの浸潤を抑制した。これらの結果より、**FKN** は間質性肺炎の病態に関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Muraoka Sei, Nishio Junko, Kuboi Yoshikazu, Imai Toshio, Nanki Toshihiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Rationale for and clinical development of anti-fractalkine antibody in rheumatic diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Biological Therapy	6. 最初と最後の頁 1309 ~ 1319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14712598.2020.1764931	査読の有無 有
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 Mizutani Satoshi, Nishio Junko, Kondo Kanoh, Motomura Kaori, Yamada Zento, Masuoka Shotaro, Yamada Soichi, Muraoka Sei, Ishii Naoto, Kuboi Yoshikazu, Sendo Sho, Mikami Tetuo, Imai Toshio, Nanki Toshihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Treatment with an Anti-CX3CL1 Antibody Suppresses M1 Macrophage Infiltration in Interstitial Lung Disease in SKG Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 474 ~ 474
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ph14050474	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 水谷聡、西尾純子、山田善登、増岡正太郎、山田壯一、村岡成、石井直人、久保井良和、今井俊夫、南木敏宏
2. 発表標題 CX3CL1阻害による関節リウマチ関連間質性肺疾患の治療効果の検討
3. 学会等名 日本リウマチ学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田壯一、三好嗣臣、楠夏子、佐藤洋志、久保井良和、根岸(星野)香菜、石井直人、今井俊夫、三上哲夫、中野裕康、川合眞一、南木敏宏
2. 発表標題 EFFECTS OF CX3CL1 INHIBITION ON MURINE BLEOMYCIN-INDUCED INTERSTITIAL PNEUMONIA
3. 学会等名 ヨーロッパリウマチ学会（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
---------	---------