

【平成25年度】

## 上葉肺線維症の呼吸機能の推移に関する研究

渡辺憲太郎<sup>1\*</sup> 原田 泰志<sup>1</sup> 石井 寛<sup>1</sup> 吉田 祐士<sup>1</sup> 白石 素公<sup>1</sup>  
永田 忍彦<sup>2</sup> 北里 裕彦<sup>3</sup> 若松謙太郎<sup>4</sup> 鶴田 伸子<sup>5</sup>

2012年、特発性上葉肺線維症(上葉限局型肺線維症もしくは上葉優位型肺線維症)(pulmonary upper lobe fibrosis, PULF: pleuroparenchymal fibroelastosis, PPFE) 9例の病理組織学的特徴と呼吸機能の特徴をRespiratory Investigationに報告したが、その後症例を集積し、17例の呼吸機能の特徴をまとめることができた。FVCの年次変化を観察すると、Respiratory Investigationに報告したように急速に悪化する症例が多いが、緩やかに経過する例もある。PPFEはheterogeneousな疾患群である。

---

<sup>1</sup> 福岡大学医学部呼吸器内科学

<sup>2</sup> 福岡大学筑紫病院呼吸器内科

<sup>3</sup> 社会保険久留米第一病院呼吸器内科

<sup>4</sup> 国立病院機構大牟田病院呼吸器科

<sup>5</sup> 国家公務員共済組合連合会浜の町病院呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

## A. 研究目的

PPFEの呼吸機能の特徴、呼吸機能の年次推移と予後を明らかにする。

## B. 研究方法

我々は9例のPPFE患者の呼吸機能の年次推移をRespiratory Investigationに発表した(Respir Invest 50:88-97, 2012)(1)が、今回新たに8例を加え、17例のPPFEにおける臨床背景や呼吸機能を後ろ向きに調査した(2)。スパイロメトリーとDLcoについては1年以上追跡できた症例を採り上げた。

診断は外科的肺生検もしくは剖検によった。

症例の性、年齢、基礎疾患、合併疾患、喫煙歴、Body mass index(BMI)、cracklesの有無、血中KL-6、予後を調査した。

## C. 研究結果

### 1) 臨床背景

診断時の年齢は30歳台から80歳台に幅広く分布していたが、50歳未満の症例が5例あることが特徴であった。高齢者に多い特発性肺線維症(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)に比べ、年齢分布に違いがある。

17例中5例に基礎疾患・合併症があった。その内訳は肺移植後、潰瘍性大腸炎、過敏性肺臓炎、食道癌照射後、肺MAC症などであった。

17例中13例は非喫煙者であり、本病態の成因に喫煙の関与が乏しいことが改めて示された。

全例がBMI20.1以下のやせ型であった。

KL-6が500U/mLの正常範囲に止まる例が15例中6例あった。

### 2) 初診時の呼吸機能

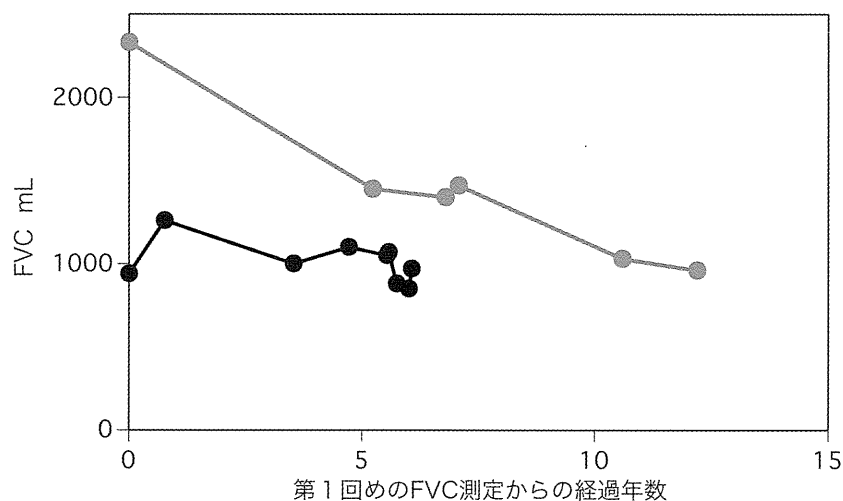
予測値に対してFVC80%未満の症例が11例、TLC80%未満の症例が14例中8例であった。また予測値に対してDLcoが80%未満の症例が13例中8例あった。これらの拘束性換気障害とガス交換障害はIPFと同様である。しかし14例中10例の残気率(RV/TLC)が予測値に対して120%を超えていた。これはIPFとの大きな違いであった。

### 3) 呼吸機能の年次推移

FVCの変動を1年以上観察できた症例が15例あった。各症例の年間減少率を一次回帰式で求め、15例のFVCの平均年間減少率を計算すると-14.5%であった。しかし、2例(FVCの観察期間はそれぞれ12年と6年)のFVCの減少曲線は極めて緩徐であり、他の13例の急峻な減少パターンと比較して違いが明らかであった(図)。

## D. 考 察

2012年Respiratory Investigationに9例の特発性PULF/PPFEの臨床背景や呼吸機能の推移を報告した(1)が、今回は新たに7例を追加し、前回の結果と対比検討した。全ての症例の体型がやせ型であり、非喫煙者が多く、比較的若年層から高齢者まで幅広



い発症年齢であったことは前回と同様であった(2).

前回から新たに7例が加わったことにより、FVCの年間減少率が-20.3%から-14.5%とやや緩やかになったが、それでも10%を超えるFVCの年間減少率であり、PULF/PPFEの進行はIPFとあまり変わらないようにみえる。

しかし、15例のFVCの年次推移を調査する中で、FVCの低下が長期間にわたり極めて緩徐な症例が2例あった。網谷らの呈示したPULFは10-20年の臨床経過できわめて緩徐に進行する肺線維症である(3)。今回の2例の臨床経過は網谷の提唱する肺線維症と同様の経過を示した。今回の症例集積は病理組織学的にPPFEと確定診断した症例を検討したが、PPFEという稀な肺線維症においてもその臨床経過はheterogeneousであり、今後さらに症例を集積して検討する必要がある。

今回の検討で残気率が大きいことも確認された。上肺野の線維化は同部位の収縮と下葉の代償的過膨張を招来し、残気率の上昇をきたす。下肺野に線維化の主座があるIPFでは残気率はむしろ低下傾向であり、両者に大きな相違がある。線維化病巣の解剖学的占拠部位の相違が残気率の相違に反映した結果となった。

## E. 結 論

PULF/PPFEは国際的にその名称がPPFEに統一された。またPPFEは“稀な”肺線維症(4)ということ

になっているが、IPFと診断されている症例に上肺野の胸膜に接してPPFE様の病変を観察できることは稀ではない。また上肺野優位の線維症があっても下肺野の胸膜下に網状影があることもよく経験することである。PPFEは“稀な”肺線維症ではないかもしれない。PPFEが特発性間質性肺炎の国際分類に登場したことにより、今後症例報告が増加することが予想される。

## 参考文献

- 1) Watanabe K, Nagata N, Kitasato Y, et al., Rapid decrease in forced vital capacity in patients with idiopathic pulmonary upper lobe fibrosis. *Respir Invest* 50:88-97, 2012.
- 2) Watanabe K, Nagata N, Kitasato Y, et al., Forced vital capacity and DLco rapidly deteriorate in patients with pulmonary upper-lobe fibrosis. *Respirology* 18(Suppl.4):50, 2013.
- 3) 網谷良一, 新実彰男, 久世文幸. 特発性上葉限局型肺線維症. *呼吸* 11:693-699, 1992.
- 4) Travis WD, Costabel U, Hansell DM, et al. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Update of the International Multidisciplinary Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Amer J Respir Crit Care Med* 188:733-748, 2013.

【平成25年度】

在宅酸素療法・リハビリテーション部会(谷口博之)

## 長期酸素療法導入後の特発性肺線維症患者の 予後調査と予後予測因子の前向き検討(本年度進捗)

公立陶生病院 呼吸器・アレルギー内科	谷口博之*	片岡健介	近藤康博
京都大学大学院医学研究科 呼吸器内科学			三嶋理晃
日本医科大学内科学講座 呼吸器・感染・腫瘍部門			吾妻安良太
自治医科大学 呼吸器内科			坂東政司
NHO近畿中央胸部疾患センター 呼吸不全・難治性肺疾患研究部			井上義一
神奈川県立循環器呼吸器病センター 呼吸器内科			小倉高志
東邦大学医療センター大森病院 呼吸器内科			本間 栄

\*酸素療法・リハビリテーション部会 部会長

本邦の日常診療において、特発性肺線維症(IPF)に対する長期酸素療法(long term oxygen therapy: LTOT)は広く導入されているが、実際にどのようなIPF患者を対象に導入されているのか、導入されてからの生命予後はどの程度であるのか、また生命予後を予測する因子は何なのか、についてのデータは皆無に近い。LTOT導入されるIPFの生命予後と予後予測因子を調査することを目的とし、多施設共同前向き観察研究を開始しており、本年度の進捗状況と中間解析結果を報告する。

### 緒 言

ATS/ERS/JRS/ALATのIPFガイドライン<sup>1)</sup>によると、非薬物的治療として、低酸素を伴うIPFに対する長期酸素療法(long term oxygen therapy: LTOT)はエビデンスが乏しいものの、「安静時低酸素を認める場合は、strong recommendation」と記されており、日常臨床においても広く行われているのが現状である<sup>2)</sup>。しかしながら、実際にどのようなIPF患者を対象に導入されているのか、導入されてからの生命予後はどの程度であるのか、についてのデータは皆無に近く、このように進行した状態のIPF患者の予後規定因子も不明である。

### 目 的

LTOT導入されるIPF患者の予後や予後予測因子を調査すること。

### 方 法

研究デザイン：多施設前向き観察研究。  
研究協力施設：厚生労働省びまん性肺疾患に関する調査研究班に所属する各施設  
対象症例：研究協力施設において新規にLTOT導入されるIPF患者のうち、本研究参画に対して同意が得られる症例。IPFの診断はATS/ERS/JRS/ALATのIPFガイドラインに準ずる。  
研究期間：各施設において倫理委員会の通過後2年間を登録期間とし、最終症例の登録後3年間を追跡期間とする。  
IPF患者のLTOT導入時に調査票を記入し登録をする。登録された患者の予後追跡を行う。

### 観察項目：

LTOT導入日、年齢、性別、医療機関にて初めて間質性肺炎を指摘された年齢、外科的肺生検有無  
LTOT初期設定、酸素供給機種  
喫煙歴  
ガイドラインに準じたHRCTパターン分類

(Consistent, Possible, Inconsistent)

CTによる上肺の気腫性変化の割合(目測5%きざみ)

体格(身長, 体重)

呼吸機能検査(VC, FVC, FEV1/FVC, DLco)

動脈血液ガス(採血時の酸素吸入条件, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>)

6分間歩行テスト(評価時の酸素吸入条件, 6分間歩行距離, テスト前SpO<sub>2</sub>, 最低SpO<sub>2</sub>)

採血データ(白血球数, ヘモグロビン濃度, 血小板数, LDH, BNP, KL-6, SP-D, 安定期のCRP)

LTOT導入時の治療薬剤(ピルフェニドン, N-アセチルシステイン吸入, ステロイド, シクロスポリン, シクロホスファミド, アザチオプリン, シルデナフィル, タダラフィル, ポセンタン, アンブリセンタン, ベラプロスト, 利尿剤))

修正MRC

COPDアセスメントテスト(CAT<sup>3</sup>)総合点

Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD<sup>4</sup>)(不安, 抑うつ)

予後に影響を与えるような合併症

#### 解析方法

Kaplan-Meier法によりLTOT導入時からの生存曲線を求める。また予後予測因子を見出すためにMantel-Haenszel検定を用い、有意差を認める各パラメータに関して比例ハザードモデルを用いて生存率に対する多数の要因の影響を分析する。有意水準は5%とする。

#### 調査の流れ

新規にLTOT導入を決定したIPF患者に対して調査の説明と同意の取得

同意取得可能であれば、同時に修正MRCを聴取し、CATとHADを回収

↓

「登録票」を完成させる

↓

「登録票」を研究事務局へFAXし登録完了

↓

研究期間終了時に研究事務局より送付される「(転帰)追跡調査票」を返送し、調査終了

#### 経過報告

本研究は前向き臨床試験のためのUMIN登録が完了しており、研究班所属施設のうち、施設内IRB承認が得られた22施設(表1)から順次症例登録が開始されている。2013年12月4日現在、11施設から37例の登録があり、症例の概要を以下に示す。なお、Primary outcomeとしている全生存期間と予後規定因子の解析に関しては、全調査期間終了時点に行う(転帰)追跡調査が未回収であるため、行っていない。

#### 中間解析

症例は37例、男性29例、女性8例、平均年齢69.2歳、であった。LTOT機種としては吸着型、酸素圧縮ボンベ、液体酸素型がそれぞれ20例、9例、8例であった。導入時からLTOTを24時間使用しているのは16例であった。導入時の労作時流量は平均2.2L/minであった。登録時収集データのうち、主だったものについて、表2に示す。

表1 研究協力施設

公立陶生病院	九州大学胸部疾患研究施設
京都大学	東京医科大学
日本医科大学	東京慈恵会医科大学
自治医科大学	虎の門病院
近畿中央病院胸部疾患センター	福岡大学医学部
神奈川循環器呼吸器センター	埼玉医科大学
東邦大学医療センター大森病院	福島県立医大
杏林大学	千葉大学医学部
天理よろづ相談所病院	東京病院
産業医科大学	高知大学
札幌医科大学	名古屋大学

表2 中間解析 (n=37)

<b>Spirometry</b>		<b>Six min-walk test</b>	
VC (ml)	2167±634	distance (m)	329±171
%VC (%)	66.1±17.8	minSpO <sub>2</sub> (%)	77.1±10.3
FVC (ml)	2003±669	<b>Dyspnea</b>	
%FVC (%)	66.2±17.8	mMRC (grade)	2.4±1.1
FEV1/FVC (%)	87.3±8.4	<b>Patient reported outcome</b>	
DLco	6.7±2.5	CAT (score)	21.0±7.1
%DLco (%)	42.5±15.3		
<b>BGA-A (room air)</b>			
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	68.3±10.6	HAD anxiety	7.3±4.3
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	40.8±5.5	HAD depression	8.5±3.8
mean±SD			

## 考 察

一般的にIPFの予後予測因子としては、ベースラインの呼吸困難感、肺拡散能力低値、運動時低酸素、HRCTでの蜂巣肺の範囲、肺高血圧合併などが知られている<sup>5)</sup>。CATはCOPDの健康関連QOLを評価する簡便な質問票として、考案され実用化されているが、最近、間質性肺炎患者に対しての有用性が報告されている<sup>6)</sup>。HADは不安・うつを定量的に評価する質問票として検証されており<sup>7)</sup>、今回の対象症例の心理的因子を評価するのに有用と考えた。本研究班所属の施設において、高い精度で前向きに調査するという手法を用いて、年齢、呼吸機能、IPF罹患歴、喫煙歴、血清マーカーなどの臨床データ、画像所見、運動耐容能、呼吸困難、健康関連QOL、心理的因子といったIPFの予後予測となり得る可能性のある多面的なパラメータについて、収集解析することを目指す。

## 結 論

このたび、LTOT導入されるIPF患者を前向きに症例集積し、LTOT導入時の患者背景、生命予後、予後規定の予測因子を評価するための前向きプロトコルを作成し、症例集積を開始している。同様の解析は前例がなく、酸素療法導入されるような進行例のIPF患者の治療を行っていく上で、有用なデータが得られると期待される。目標症例数までの登録継続中であり、症例集積後の予後調査を完了次第、全生存期間や予後予測因子の解析を行う予定である。

## 参考文献

- 1) Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. ATS/ERS/JRS/ALAT Committee on Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183:788-824.
- 2) 日本呼吸器学会 肺生理専門委員会 在宅呼吸ケア白書ワーキンググループ. 呼吸ケア白書 2010. 株式会社メディカルレビュー社. 2010.
- 3) Jones PW, Harding G, Berry P, et al. Development and first validation of the COPD Assessment Test. *Eur Respir J*. 2009;34:648-654.
- 4) Nishiyama O, Taniguchi H, Kondoh Y, et al. A simple assessment of dyspnoea as a prognostic indicator in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2010 Nov;36:1067-1072.
- 5) Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983;67:361-370.
- 6) Nagata K, Tomii K, Otsuka K, et al. Evaluation of the COPD assessment test (CAT) for measurement of health-related quality of life in patients with interstitial lung disease. *Respirology*. 2012 17:506-512.
- 7) Kugaya A, Akechi T, Okuyama T, et al. Screening for psychological distress in Japanese cancer patients. *Jpn J Clin Oncol*. 1998;28:333-338.

【平成25年度】

気腫合併肺線維症(CPFE)部会(小倉高志)

## 気腫合併肺線維症(CPFE)部会：活動報告

研究協力者 小倉 高志

神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器内科  
副院長兼呼吸器内科部長

CPFE(気腫合併肺線維症)について3年間の検討で以下のことが抽出された

①CPFEは独立した疾患概念ではなく症候群である。診断基準を作成することは困難であるが、合併症を抽出するためには有用な概念である。診断基準というより、日本の呼吸器科医が共通のCPFEの定義やルールを決める時に必要があると考えられる。

②CPFEの臨床画像病理学的検討では、CPFEの一部にIIPsの従来の7型パターンには分類できない、喫煙との関連が強く疑う新しいIPのパターンが存在する可能性が示唆された。すなわち、画像では下葉で胸膜より内部にすりガラス性陰影と嚢胞を有して、嚢胞陰影が経過と共に拡大する特徴があり(図4)、組織学的には小葉中心性嚢胞変化と線維化を示すという共通の特徴がある例が抽出された。

### (1) CPFE 部会の構成

神奈川県立循環器呼吸器病センター呼吸器内科

小倉高志

JR 東京病院呼吸器内科

山口哲生

札幌医大第三内科

高橋弘毅

福岡大学医学部呼吸器内科

渡辺憲太朗

北海道大学第1内科

西村正治

東北大学病院 呼吸器内科

海老名雅仁

近畿中央病院呼吸器内科

井上義一

千葉大学呼吸器内科学

巽浩一郎

公立陶生病院呼吸器・アレルギー内科

谷口博之

虎の門病院 呼吸器センター内科

岸 一馬

埼玉医科大学国際医療センター放射線診断部

酒井文和

### (2) CPFE 部会の活動と結果

#### A. 間質性肺炎の専門施設においてCPFEをどうとらえているかを検討するための調査アンケートと症例検討会の開催

2005年にCottinらがcombined pulmonary fibrosis and emphysema(CPFE)という用語を提唱した。その後もCPFEの報告が多数されたが、現時点での共通

認識されている事としては以下の点があげられる。

①病因としては喫煙の関与が疑われる症候群である、②スパイロメトリーが正常に近いが、ガス交換能が低下している、③進行例では、共通した合併症(肺癌、肺高血圧、アスペルギルス感染)の頻度が高い。現在はCPFE(気腫合併肺線維症)については、症候群であり、一つの独立した疾患・概念としてではないという意見が一般的である。そのため、診断基準を作成することは困難かと考える。ただ、CPFEの予後についても報告がまちまちであるのも、気腫の程度や肺線維症の取扱いが関係している。最近の欧米での報告の多くは、背景疾患がIPFである症例群に限定してCPFEを検討している(図1)。

びまん班に参加の間質性肺炎の専門施設が、CPFEをどうとらえているかを調査するために、2012年11月18日びまん班の参加施設で症例検討会とアンケート調査を施行した。内容としては、①CPFEにおける気腫の程度、②間質性肺炎のパターンをどのようにとらえているかを回答していただいた(23施設)。結果としては、実地臨床ではCPFEという診断名を用いていないという施設が3施設あり。①CPFEにおける気腫の程度については、気腫病変の割合を問わない(11施設)、上肺の気腫病変が10%以上とする(1施設)、上肺の気腫病変が25%以上と

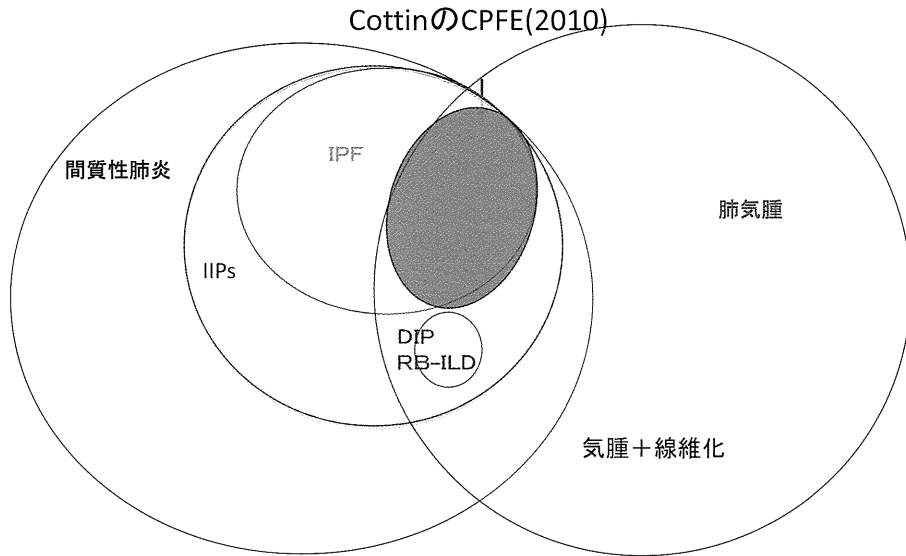


図1 欧米におけるCPFEの概念

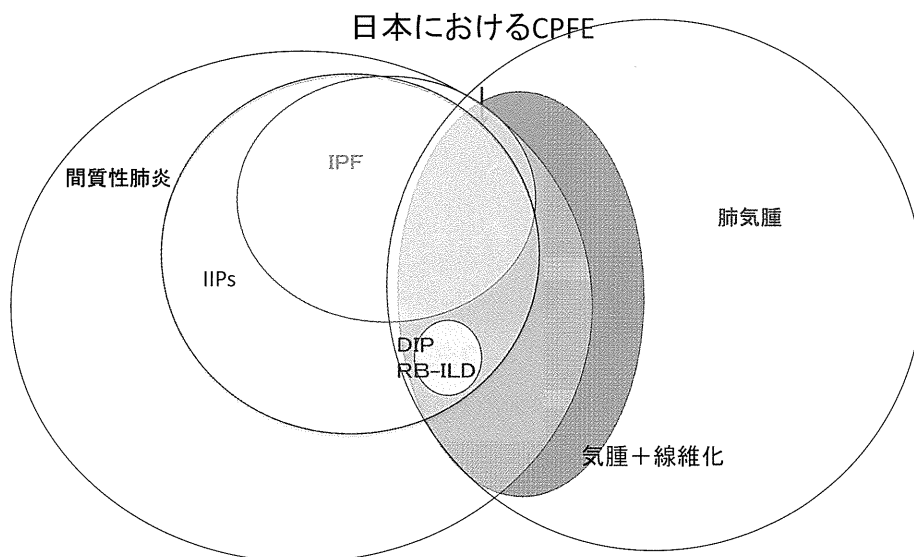


図2 日本におけるCPFEの概念

する(6施設), National Emphysema Treatment Trial (NETT) scoring systemを用い, 気腫性病変がどの部位でも5%を超える症例を選ぶ(2施設). ②間質性肺炎のパターンをどのようにとらえているかについては, IPのパターンを問わない(19施設), IPFに限る(1施設)であった. 日本ではIPFにかぎらず, NSIP症例や肺気腫の要素の強い分類不能型の症例もCPFEととらえて施設も多いことがわかった(図2).

又, 実際の症例検討会では, IPFなどの間質性肺炎の要素の強い症例と肺気腫の要素の強い症例が提

示された. 研究対象としては海外と同様IPFに限定してCPFEをとらえていく意見と, 肺癌や肺高血圧などの合併症を抽出する意味で実地臨床においての重要性の観点で肺気腫の要素の強い症例も一緒に検討すべきとの意見がでた. 診断基準というより, 日本の呼吸器科医が共通のCPFEの定義やルールを決める時に必要があると改めて考えさせられた.

#### B. 気腫合併肺線維症の臨床・画像・病理診断学的特徴を明らかにするための後方視的臨床研究

②1998年から2010年までの間に神奈川県立循環器



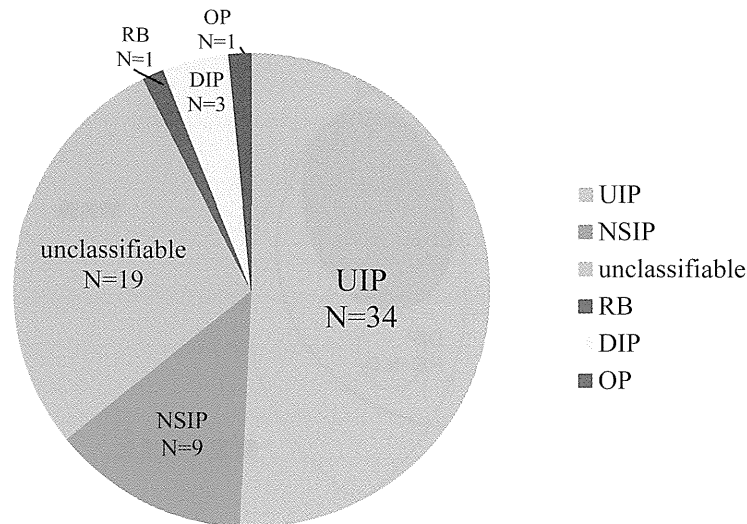


図3 気腫性変化を伴うIPの組織型 (n=67)

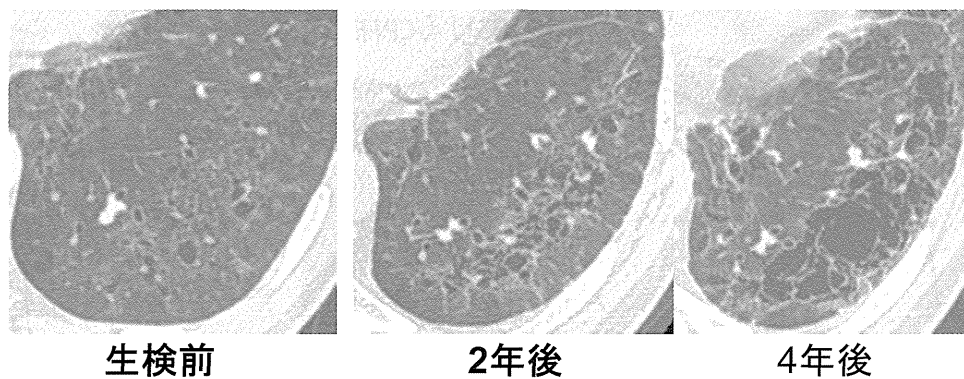


図4 分類不能型の気腫合併肺線維症HR-CT画像(左下葉)の推移

呼吸器病センター呼吸器内科において外科的肺生検が施行された肺気腫合併肺線維症67例について、画像所見を胸部放射線科医が、病理所見を呼吸器病理医が独立して評価した。結果として、UIP pattern34例、NSIP pattern9例、DIP pattern 3例、分類不能型 19例、RB pattern1例、OP pattern1例と多彩な組織所見を認めた(図3)。分類不能型の間質性肺炎のグループの中に、HR-CTにて下葉の間質性肺炎の部分で、胸膜より内部にすりガラス性陰影と嚢胞を有して、嚢胞陰影が拡大する一群を認めた(図4)。肺組織では、小葉中心性嚢胞変化+線維化を示した(図5)。

③2013年の東京びまん研においては、気腫合併肺線維症において線維症の組織がUIPパターン以外の症例を全国的に集積した(倫理面への配慮とし

て、データーをとるにあたり、個人情報管理に注意を払った)。目的としては、いままでの特発性間質性肺炎の分類における7つの病理パターンでは分類できないパターン(分類不能型)の中に、新しい喫煙関連の組織パターンや画像パターンがあるかを同定する事であった。結果として、46例の症例を集積した。検討した病理診断の結果は、UIP pattern7例、NSIP pattern8例、DIP pattern 3例、分類不能型 28例を認めた。単施設での①の検討で認めたように病理では小葉中心性嚢胞変化+線維化を示し、画像では胸膜より内部にすりガラス性陰影と嚢胞を有して、嚢胞陰影が拡大する共通した特徴をもつ一群を16例で認めており、新しい喫煙関連の組織パターン間質性肺炎の存在する事が示唆された。

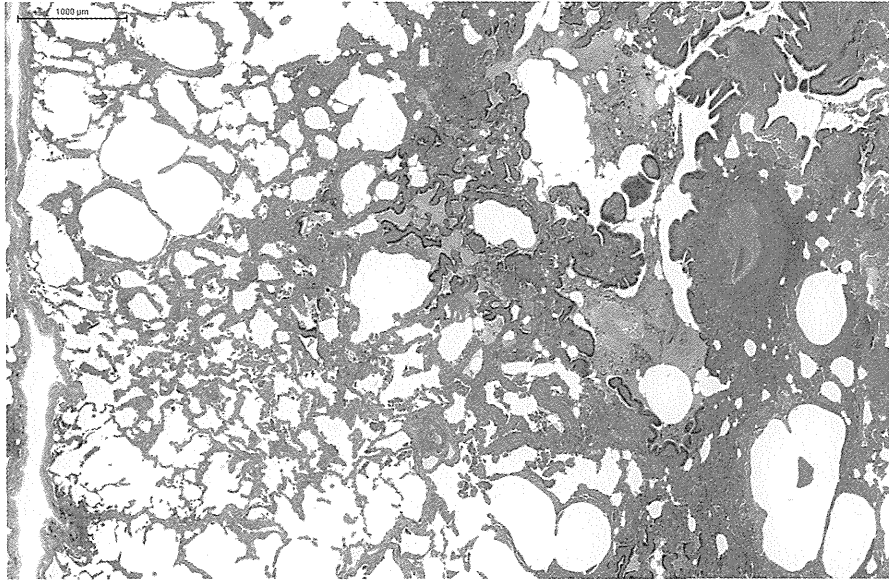


図5 分類不能型の気腫合併肺線維症  
外科的肺生検による組織像 (HE染色)

### C. 研究発表

#### 論文発表

- ①小倉高志 武村民子. DIPと喫煙関連間質性肺炎.呼吸と循環 61: 139-145, 2013
- ②小倉高志, 中澤 篤人, 酒井 文和. 肺 Langerhans 細胞組織球症—画像の多様性— 日呼吸誌, 2(5): 527-535, 2013

### D. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

#### 共同研究者

日赤医療センター病理部	武村民子
埼玉県立循環器呼吸器病センター病理部	河端美則
神奈川県立循環器呼吸器病センター放射線科	岩澤多恵
福井大学高エネルギー研究センター	伊藤春海
JR 東京病院呼吸器内科	山田嘉仁
東京病院病理部	蛇澤 晶
日本医大病理部	寺崎泰弘
近畿中央病院放射線科	上甲 剛
倉敷中央病院	有田真知子

以下のCPFEの症例検討会, アンケート協力施設に謝辞を申し上げます

JR 東京病院 札幌医大, 東京医科歯科大学 福岡大学, 北海道大学, 浜松医大, 東邦大学, 東北大学 病院 胸部疾患近畿中央病院, 千葉大学, 公立陶生 病院, 獨協医科大学, 自治医科大学呼吸器内科, 虎 の門病院, 東京医大, 杏林大学, 九州大学, 産業医 大, 天理よろず 병원, 名古屋大学, 広島大学, 福島 県立医大, 福岡大学

以下の東京びまん研参加施設に謝辞を申し上げます

JR 東京総合病院, 倉敷中央病院, 自治医科大学, 神戸市立医療センター中央市民病院, 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター, 神奈川県立循環器呼吸 器病センター, 札幌医科大学, 公立陶生病院 呼吸 器・アレルギー内科, 国立病院機構姫路医療セン ター, 名古屋市立大学大学院, 九州大学胸部疾患 研究施設, 福岡大学, 国立病院機構山口宇部医療 センター, 大分大学, 滋賀医科大学, 国立病院機 構西群馬病院, 日本赤十字社医療センター, 虎の 門病院

## (5) 基礎的検討

【平成24年度】

## Syndecan-4は肺線維芽細胞においてTGF- $\beta$ によるcollagenと $\alpha$ -SMA mRNA発現亢進を抑制する

谷野 功典      王    新涛      福原奈緒子      二階堂雄文  
美佐 健一      植松 学      福原 敦朗      佐藤 俊  
横内 浩      石田 卓      棟方 充\*

Syndecan-4は細胞表面に発現するヘパラン硫酸プロテオグリカンで、そのグリコサミノグリカン側鎖は様々な cytokine, growth factor などと結合し生理学的作用をもつ。特発性肺線維症 (IPF) の肺では上皮細胞やマクロファージに syndecan-4 が強く発現していることから、IPF の病態に関与していることが示唆されるが、肺の線維化における syndecan-4 の役割の詳細は不明な点が多い。そこで、肺線維化における syndecan-4 の役割を検討するために、肺線維芽細胞株 WI-38 を使用し、TGF- $\beta$  刺激後の type I collagen (COL1A1)、 $\alpha$ -SMA mRNA 発現亢進と Smad3 と Akt のリン酸化に対する recombinant syndecan-4 の co-incubation と syndecan-4 knockdown の効果を検討した。また、TGF- $\beta$  と recombinant syndecan-4 の結合を *in vitro* binding assay で解析し、更に syndecan-4 欠損マウスに bleomycin を気管内投与し、14日後の COL1A1 と  $\alpha$ -SMA mRNA 発現を wild-type マウスと比較した。肺線維芽細胞 WI-38 において TGF- $\beta$  刺激による COL1A1、 $\alpha$ -SMA mRNA の発現亢進と Smad3、Akt のリン酸化亢進は、recombinant syndecan-4 と TGF- $\beta$  の co-incubation により抑制され、siRNA による syndecan-4 の knockdown により増強された。また、recombinant syndecan-4 は TGF- $\beta$  に濃度依存性に結合した。更に、bleomycin 投与14日後の COL1A1 と  $\alpha$ -SMA mRNA 発現は wild-type マウスと比較して syndecan-4 欠損マウスでより増強していた。以上の結果より、syndecan-4 は肺線維芽細胞において TGF- $\beta$  による Smad3 と Akt リン酸化抑制を介し collagen の産生亢進と筋線維芽細胞への分化を抑制することから、IPF における肺線維化の病態への関与が示唆される。

---

福島県立医科大学呼吸器内科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究協力者

## はじめに

Syndecan-4は、細胞表面に発現するヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPG)であり、ヒトではsyndecan-1から4までの4種類が存在する<sup>1)</sup>。Syndecanはmatrix metalloproteinase (MMP)-7, 9やADAM17などにより細胞表面から切断され、細胞表面型のみではなく可溶性(soluble form)としても存在し<sup>2,4)</sup>、そのヘパラン硫酸側鎖は種々のcytokine, chemokine, growth factorと結合することによって、その生物学的な活性を調節していると考えられている<sup>5)</sup>。

最近、我々はLPS気管内投与マウス肺傷害モデルにおけるHSPG mRNAの発現を検討したところ、syndecan-4のみ上昇がみられたが、他のHSPGは変化していなかった。また、syndecan-4欠損マウスにLPSを気管内投与しwilt-typeと比較検討したところ、LPS気管内投与3, 6時間後のBAL液中好中球はsyndecan-4欠損マウスにおいてwild-typeと比較して多く、BAL液中のCXC chemokineであるKC, MIP2もsyndecan-4欠損マウスで高値であった<sup>6)</sup>。これらの結果は、syndecan-4はLPS肺障害において抗炎症作用をもつことを示唆している。

特発性肺線維症(IPF)は、5年生存率が約50%の予後不良の難治性肺線維化疾患であり、肺の傷害に引き続く過剰な修復による線維芽細胞からコラーゲンなど細胞外マトリックスの過剰産生がその病態の本態である<sup>7)</sup>が、その詳細については不明な点が多い。これまで我々は、syndecan-4がIPF肺組織において上皮細胞やマクロファージに強く発現し<sup>8)</sup>、IPF患者からの気管支肺胞洗浄(BAL)液中のsyndecan-4濃度は健常者より高値であることを示している<sup>9)</sup>が、

今回の検討では、肺線維芽細胞株を使用して肺の線維化におけるsyndecan-4の役割を検討した。

## 方 法

肺線維芽細胞株WI-38を使用し、TGF- $\beta$  (1 ng/ml) 刺激24時間後のtype I collagen (COL1A1) と $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) のmRNA発現(定量的RT-PCR)と、刺激15分後のSmad3とAktのリン酸化(Western blotting)に対するsyndecan-4の役割を知るために、まずrecombinant syndecan-4 (1000 ng/ml) とTGF- $\beta$ のco-incubationの有無、次にsyndecan-4 siRNA 導入によるsyndecan-4 knockdownの有無の効果を検討した。更に、TGF- $\beta$ とsyndecan-4との結合を検討するために、recombinant TGF- $\beta$  (5 ng/ml) をELISA plateにcoatingし、種々の濃度のrecombinant syndecan-4と4°C overnightでincubate後、480 nmによる吸光度(OD480)を測定した。最後に、syndecan-4の肺線維化における役割を*in vivo*で検討するために、syndecan-4欠損マウスにbleomycin (2.5 mg/kg) を気管内投与し、投与14日後の肺組織におけるCOL1A1と $\alpha$ -SMA mRNAの発現をwild-typeマウスと比較した。

## 結 果

肺線維芽細胞株WI-38において、TGF- $\beta$ 刺激24時間後にCOL1A1と $\alpha$ -SMA mRNAの増加が認められ、刺激15分後にSmad3のリン酸化亢進が認められた(data not shown)が、TGF- $\beta$ とrecombinant syndecan-4のco-incubationは24時間後のCOL1A1と $\alpha$ -SMA mRNAの増加を抑制し(Figure 1)、15分後のSmad3

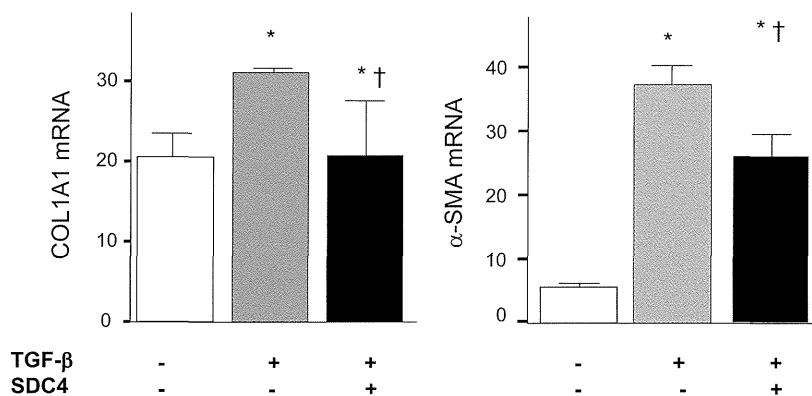


Figure 1. Effect of Syndecan-4 on COL1A1 and  $\alpha$ -SMA mRNA Expression after TGF- $\beta$  Stimulation. SDC4: syndecan-4. \*:  $p < 0.01$  vs. Medium only, †:  $p < 0.05$  vs. TGF- $\beta$ . Means + SE.

と Akt のリン酸化亢進を抑制した (Figure 2). 更に, syndecan-4 siRNA の導入細胞において, TGF-β 刺激 24 時間後の COL1A1 と α-SMA mRNA 発現は, control siRNA 導入細胞より増加しており (Figure 3), また 15 分後の Smad3 と Akt のリン酸化は siRNA 導入細胞において control siRNA 導入細胞より亢進していた. また, TGF-β は syndecan-4 と濃度依存性に結合することが *in vitro* binding assay で示され (Figure

4), 更に, syndecan-4 欠損マウスでの bleomycin 気管内投与 14 日後の肺組織における COL1A1 と α-SMA mRNA 発現は, wild-type マウスと比較して高値であった (Figure 5).

結論と考察

今回, 我々は肺線維化における syndecan-4 の役割を明らかにするために, 肺線維芽細胞株 WI-38 への TGF-β 刺激に対する syndecan-4 の作用を検討した. Syndecan-4 は, 生体内では細胞表面に存在するとともに, shedding を受け可溶型としても存在する<sup>1-5)</sup>. 今回の検討で, recombinant syndecan-4 が TGF-β による collagen と α-SMA 発現の増加を抑制し, syndecan-4 siRNA により syndecan-4 の発現を抑制すると TGF-β による collagen と α-SMA 発現の増加が更に亢進し, また TGF-β と syndecan-4 が結合すること

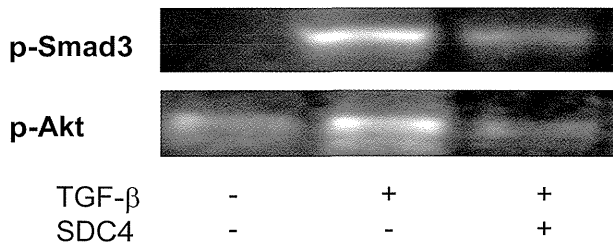


Figure 2. Effect of Syndecan-4 on Phosphorylation of Smad3 and Akt Expression. SDC4: syndecan-4.

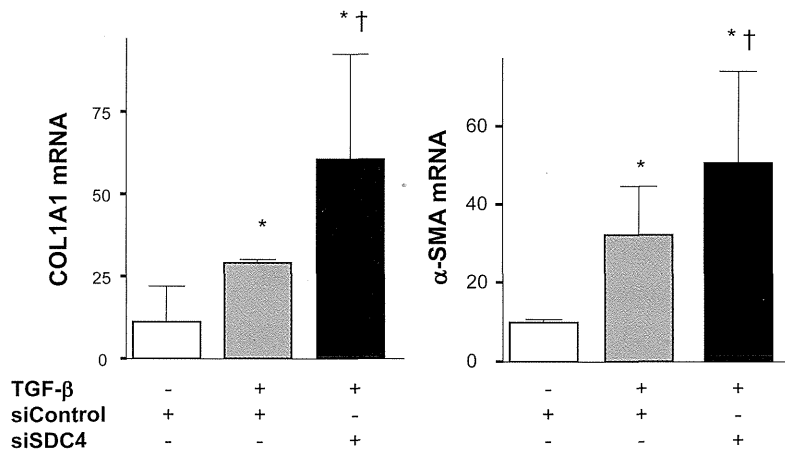


Figure 3. Effect of Syndecan-4 siRNA on COL1A1 and α-SMA mRNA Expression after TGF-β Stimulation. SDC4: syndecan-4. \*: p < 0.01 vs. Medium only, † : p < 0.05 vs. TGF-β. Means ± SE.

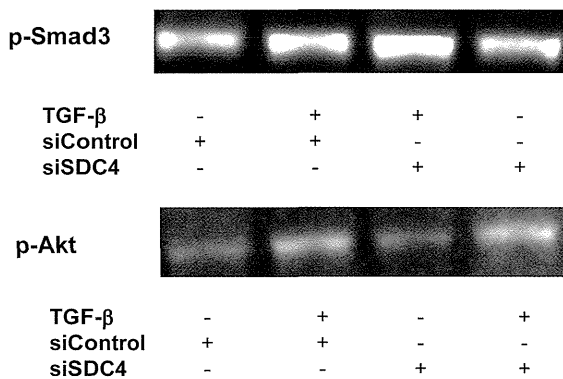


Figure 4. Effect of Syndecan-4 siRNA on Phosphorylation of Smad3 and Akt Expression. SDC4: syndecan-4.

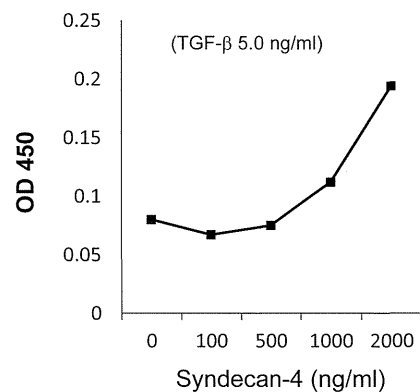


Figure 5. Binding of TGF-β to Syndecan-4.

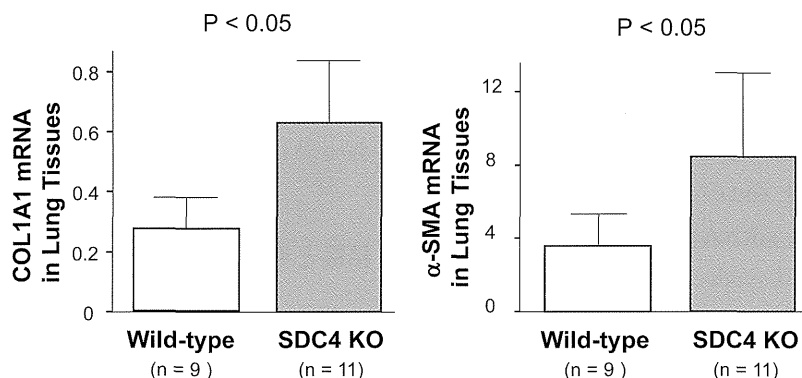


Figure 6. mRNA Expression of COL1A1 and  $\alpha$ -SMA in Syndecan-4 Deficient Mice (SDC4 KO) after BLM Instillation. Day 14 after BLM instillation. Means + SE.

を証明できたことから、可溶性と細胞表面の syndecan-4 は TGF- $\beta$  と結合し、TGF- $\beta$  と TGF- $\beta$  receptor との結合を抑制することによって Smad3 と Akt のリン酸化亢進の抑制を介して肺線維化を抑制すると考えられた。

近年、Jiang らは syndecan-4 欠損マウスを使用し bleomycin 気管内投与後の肺の線維化を wild-type マウスと比較検討し、syndecan-4 は抗線維化作用を持つ chemokine である CXCL10 とヘパラン硫酸側鎖を介して結合し、CXCL10 による線維芽細胞の遊走を抑制することにより肺の線維化を抑制すると報告している<sup>10)</sup>。また、Echtermeyer らは syndecan-4 欠損マウスでは血管新生や皮膚の組織修復作用が損なわれていることも報告しており<sup>11)</sup>、syndecan-4 は組織の傷害・修復に重要な役割を果たしていると考えられる。

我々の気道上皮細胞株 BEAS-2B を使用した *in vitro* の検討では、recombinant syndecan-4 の前処置は LPS や TNF- $\alpha$  による CXCL8 mRNA の増加を抑制しており、syndecan-4 のヘパラン硫酸側鎖を介した TNF- $\alpha$  と recombinant syndecan-4 の結合が TNF- $\alpha$  と BEAS-2B 上の TNF- $\alpha$  receptor との結合を抑制することにより CXCL8 mRNA 増加を抑制したと考えられる<sup>6)</sup>。Jiang らのマウス bleomycin 肺線維症モデルの検討<sup>10)</sup>では、BAL 液中の TGF- $\beta$  濃度は syndecan-4 欠損マウスと wild-type マウスでは差が認められていなかったにも関わらず、syndecan-4 欠損マウスでは肺の線維化が高度であったことから、syndecan-4 は TGF- $\beta$  の発現抑制を介さずに TGF- $\beta$  による細胞内シグナルの活性化抑制を引き起こしていると考えられる。以上より、syndecan-4 は側鎖であるヘパラン硫

酸と種々のメデイエーターとの結合を介して、抗炎症作用や抗線維化作用を持つと考えられるが、細胞表面の syndecan-4 はコア蛋白を介して PKC $\alpha$  の活性化などの細胞内のシグナル伝達に直接関与しているとも報告されており<sup>12,13)</sup>、いまだ不明な点も多い。

今回の検討により、syndecan-4 が肺線維化抑制作用をもつことが明らかになった。今後、IPF など難治性肺線維化疾患に対する syndecan-4 などのプロテオグリカン、グリコサミノグリカン target とした治療法の開発に向けて、さらに詳細な検討が必要と考えられる。

#### 参考文献

- 1) Gotte M. Syndecans in inflammation. *FASEB J* 17: 575-591, 2003.
- 2) Rapraeger AC. Syndecan-regulated receptor signaling. *J Cell Biol* 149: 995-998, 2000.
- 3) Fitzgerald ML *et al*: Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase. *J Cell Biol* 48: 811-824, 2000.
- 4) Pruessmeyer J *et al*: A disintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) mediates inflammation-induced shedding of syndecan-1 and -4 by lung epithelial cells. *J Biol Chem* 285: 555-564, 2010.
- 5) Manon-Jensen Tet *al*: Proteoglycans in health and disease: the multiple roles of syndecan shedding. *FEBS J* 277: 3876-3889, 2010.
- 6) Tanino Y *et al*: Syndecan-4 regulates early

- neutrophil migration and pulmonary inflammation in response to lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 47: 196-202, 2012.
- 7) Raghu G. Idiopathic pulmonary fibrosis: increased survival with “gastroesophageal reflux therapy” : fact or fallacy? *Am J Respir Crit Care Med* 184:1330-1332, 2011.
- 8) 谷野功典 他, 間質性肺炎における syndecan-4 の役割 厚生労働科学研究 特発性肺線維症の予後改善を目指したサイクロスポリン+ステロイド療法ならびにNアセチルシステイン吸入療法に関する臨床研究 平成19年度研究報告書 125-128, 2008
- 9) 谷野功典 他, サルコイドーシスにおける syndecan-4の役割 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成21年度研究報告書 273-277, 2010
- 10) Jiang D *et al*: Inhibition of pulmonary fibrosis in mice by CXCL10 requires glycosaminoglycan binding and syndecan-4. *J Clin Invest* 120:2049-2057, 2010.
- 11) Echtermeyer F *et al*: Delayed wound repair and impaired angiogenesis in mice lacking syndecan-4. *J Clin Invest* 107:R9-R14, 2001.
- 12) Shin J *et al*: Solution structure of the dimeric cytoplasmic domain of syndecan-4. *Biochemistry* 40:8471-8478, 2001.
- 13) Lim ST *et al*: Direct binding of syndecan-4 cytoplasmic domain to the catalytic domain of protein kinase C alpha (PKC alpha) increases focal adhesion localization of PKC alpha. *J Biol Chem* 278:13795-13802, 2003.



## TGFβ誘導上皮間葉移行におけるβcatenin細胞質内移行に 対するPTENリン酸化部位制御の重要性

橋本 直純<sup>1</sup> 今泉 和良<sup>2</sup> 長谷川好規<sup>1\*</sup>

特発性肺線維症は、fibroblastic fociの病理学的特徴を有する。線維化病変における線維芽細胞は多様な表現型を示すことが報告され、我々は、骨髄由来線維芽細胞や微小血管内皮細胞由来線維芽細胞を同定した。特に、epithelial-mesenchymal transition(EMT)は細胞外マトリックスの過剰産生をはじめとする線維化病変形成に極めて重要な病態であることが解明されている。これら多様な線維芽細胞が形成する線維化病変は、TGFβ過剰産生および低酸素状態など組織微小環境を形成している。我々は、組織微小環境がもたらすさまざまなEMT誘導刺激を包括的に制御し得るPTENの生理活性が、EMT誘導刺激によるPTEN C末端部位のリン酸化によって減弱することを明らかにした。さらに、PTEN C末端遺伝子変異を導入することによりTGFβ誘導EMTを制御することを明らかにした。しかしながらどのような機序によりEMTを制御するかという点については明らかではなかった。こうした中TGFβ誘導EMT関連転写遺伝子発現は細胞膜上に存在するβ-cateninの細胞質内移行によって誘導されることが報告された。我々は、PTENのC末端側リン酸化部位修飾によりTGFβ刺激によるβ-cateninの細胞膜から細胞質内への局在移行を完全に制御することによりEMTを抑制することを明らかにした。このように、PTENのC末端側リン酸化部位制御による機序を詳細に解析することは、EMTなどの表現型誘導機序を明確にすることにつながると考えられた。

### **A critical role of phosphorylation of the PTEN C-terminus in TGFβ-induced β-catenin translocation into cytoplasm during EMT**

Naozumi Hashimoto<sup>1</sup>, Kazuyoshi Imaizumi<sup>2</sup>, Yoshinori Hasegawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine and Allergy, Fujita Health University

The pathological hallmark lesions in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) are the fibroblastic foci, in which fibroblasts are thought to be involved as key mediators of matrix deposition. Current evidence suggests that the pathogenesis of pulmonary fibrosis might involve the recruitment of endothelial and alveolar/epithelial cell (AEC)-derived fibroblasts through Epithelial/Endothelial-Mesenchymal Transition (EMT), as well as bone marrow (BM)-derived fibroblasts. Fibrotic lesions contribute the development of new fibrosis lesion as tissue microenvironment through the supply of many kinds of growth factor signaling, TGFβ stimulation, and hypoxic condition as well. We showed that TGFβ and hypoxia in tissue microenvironment modulate phosphorylation levels of the PTEN C-terminal tail, resulting in loss of PTEN activity. We also demonstrated that modulation of phosphorylation sites in the PTEN C-terminal tail could rescue TGFβ and hypoxia-induced EMT. Nevertheless, the biological mechanisms remain elusive. Recently, TGFβ-induced translocation of β-catenin from E-cadherin complexes into cytoplasm is involved in the transcription of EMT target genes. In the present study, our data suggest that mutation of phosphorylation sites in the PTEN C-terminal tail (PTEN4A) inhibited EMT through complete blockade of β-catenin translocation into cytoplasm, besides the inhibitory effect of PTEN4A on TGFβ-induced activation of smad-independent signaling pathways. Thus, this exploration leads to illuminate the mechanisms, by which lung fibrosis develops.

## はじめに

特発性肺線維症は、fibroblastic fociの病理学的特徴を有する。線維化病変における線維芽細胞は多様な表現型を示すことが報告された。そうした中、我々は肺外起源由来として骨髄由来線維芽細胞の存在を報告した(1)。また、肺内起源由来としてもepithelial-mesenchymal transition(EMT)を介した肺胞上皮由来線維芽細胞の存在も報告された(2,3)。さらに我々は、endothelial-mesenchymal transition(Endothelial-MT/EMT)を介した微小血管内皮細胞由来線維芽細胞を同定して報告した(4)。EMTは細胞外マトリックスの過剰産生をはじめとする線維化病変形成に極めて重要な病態であり、その制御は間質性肺炎の治療戦略上きわめて重要なものとなる。これらの多様な線維芽細胞が形成する線維化病変は、TGFβ過剰産生および低酸素状態をもたらしている(5)。我々は組織微小環境因子であるTGFβや低酸素刺激はPTEN発現低下およびPTEN C末端リン酸化部位リン酸化亢進を誘導することによりPTEN活性低下をもたらすことを明らかにした(6)。また、PTENC末端のリン酸化部位の修飾はこれら微小環境因子誘導EMTを制御することも合わせて明らかにした(6)。しかしながら、その分子学的機序は明らかではなかった。今回これらを明らかにすることを目的とした。

## 方 法

### 1) TGFβ刺激によるβ-catenin細胞質内移行の検証

肺胞上皮細胞を用いてTGFβ刺激によるβ-catenin細胞質内移行を免疫染色で評価した。

### 2) PTEN C末端リン酸化部位遺伝子変異によるTGFβ誘導β-catenin細胞質内移行制御効果の検討

薬物(Dox)調節型遺伝子導入システムを導入した肺上皮細胞H358細胞に、薬物(Dox)調節型GFP、GFP-PTENwildおよびGFPPTEN4A(PTEN C末端リン酸化部位遺伝子変異)を導入した後、TGFβ刺激によるβ-catenin細胞質内移行を免疫染色で評価し

た。さらにすでに間葉系表現型を有するH1299細胞にPTENwild, PTEN4A, コントロールベクターを安定発現した細胞株を樹立してTGFβ刺激によるβ-catenin細胞質内移行に対する抑制効果を評価した。

## 結 果

1) 肺上皮細胞においてβ-cateninは細胞膜に局在することを免疫染色で確認した。TGFβ刺激によりβ-cateninは細胞膜から細胞質へ移行することを観察した。

2) TGFβ刺激下Dox非投与H358肺上皮細胞ではEMTを介したE-Cadherinの減弱とFibronectinの増強を認めていたが、これに一致してβ-cateninは細胞膜から細胞質内に移行した。一方、TGFβ刺激下Dox投与肺上皮細胞ではGFPおよびGFP-PTENwild導入細胞株ではβ-cateninは細胞膜から細胞質へ移行した。一方、GFP-PTEN4A導入細胞株ではTGFβ投与によってもβ-cateninは細胞膜に局在したままであった。すでに間葉系表現型を有するH1299細胞では、コントロールベクター導入株では、TGFβ非刺激下においてもβ-cateninは細胞質内移行を示した。一方、PTENwild, PTEN4A導入株では、TGFβ非刺激下においてβ-cateninは細胞膜に局在した。TGFβ刺激下では、PTENwild導入H1299細胞株ではβ-cateninは細胞質内移行を示したのに対して、PTEN4A導入H1299細胞株では細胞膜に局在したままであった。

## 考案・結論

我々は線維化病変における線維芽細胞の多様性について検討する中で(1)、これらの多様な線維芽細胞が形成する線維化病変は、TGFβ過剰産生および低酸素状態などの組織微小環境をもたらして、さらなる線維化病変形成を誘導するという仮説を立ててその検証を行っている。線維化病変はさまざまなEMT誘導刺激因子を供給する微小環境であることを示唆するので、一つの刺激を制御するのではなく複合的な制御を目標とした治療戦略が必要であるという認識に至った(5)。

PTENはEMTを誘導するさまざまな刺激を包括的に制御し得る癌抑制遺伝子であるが、我々はTGFβ

<sup>1</sup> 名古屋大学医学部呼吸器内科

<sup>2</sup> 藤田保健衛生大学呼吸器内科・アレルギー科

\* びまん性肺疾患に関する調査研究班 研究分担者

過剰産生および低酸素状態などの組織微小環境因子がPTENC末端リン酸化部位をリン酸化修飾するとともにPTEN活性減弱をもたらした。その結果としてEMT誘導をもたらすことを明らかにした。しかしながら、その機序は明らかにされていなかった。 $\beta$ -cateninはE-cadherin複合体の一部の構成分子であり細胞膜に局在することが知られていて、TGF $\beta$ 刺激によるfibronectinやvimentinなどのEMT標的分子誘導時には $\beta$ -cateninが細胞膜から細胞質内へ移行することが知られている(7)。しかしながら、組織微小環境因子であるTGF $\beta$ 刺激による $\beta$ -catenin細胞内移行はPTENC末端リン酸化を介するかどうかは明らかでなかった。

我々は肺上皮細胞がTGF $\beta$ 刺激により有意なPTEN発現抑制とPTENC末端リン酸化亢進がもたらされることを明らかにしたが(6)、今回我々はTGF $\beta$ 刺激により $\beta$ -cateninが細胞膜から細胞質内へ移行することを確認した。そこで、PTENC末端リン酸化部位のリン酸化阻害がTGF $\beta$ 刺激による $\beta$ -cateninの細胞膜から細胞質内への移行を制御するかどうかを検討した。PTENC末端リン酸化部位遺伝子変異PTEN4A導入はTGF $\beta$ 刺激による $\beta$ -cateninの細胞質内移行を阻止したが、PTENwild遺伝子導入はTGF $\beta$ 刺激による $\beta$ -cateninの細胞質内移行を阻止できなかった。さらに、すでに間葉系表現型を有するH1299細胞株でも検証したが、コントロールベクター導入H1299細胞はTGF $\beta$ 非刺激下においても $\beta$ -cateninはすでに細胞質内に移行して分布していた。しかしながらPTENwildおよびPTEN4A導入によって、 $\beta$ -cateninは細胞膜に局限することをもたらした。TGF $\beta$ 刺激下においてPTENwild導入細胞株では $\beta$ -cateninは細胞質内移行を示すにも関わらず、PTEN4A導入細胞株ではTGF $\beta$ 刺激下においても $\beta$ -cateninは細胞膜に局限することを確認した。このことは、TGF $\beta$ など組織微小環境因子が存在しない場合、PTENC末端リン酸化部位はリン酸化を受けずにPTENの活性は保たれて $\beta$ -cateninを細胞膜に保持することをもたらすが、TGF $\beta$ など組織微小環境因子刺激によりPTENC末端リン酸化部位のリン酸化が亢進してPTENの活性減弱が誘導されることによって $\beta$ -cateninが細胞質内移行するとともにEMT獲得に至ることを示唆している。一方、PTENC末端リン酸化部位遺伝子変異PTEN4AはPTENC末端

リン酸化部位のリン酸化を完全に抑制することをもたらして、TGF $\beta$ など組織微小環境因子刺激によっても $\beta$ -cateninの細胞質内移行を制御してEMT表現型獲得を完全に抑制したと考えられた。

この知見は、TGF $\beta$ 刺激のない正常状態においてもPTEN4A導入は $\beta$ -cateninの細胞内局在を細胞膜上に局在を誘導する一方、TGF $\beta$ 刺激が存在する病的状態においてもPTEN4A導入は $\beta$ -cateninを細胞膜上に維持するとともにEMT表現型獲得を完全に抑制することが予測される。これは正常な環境にある構成細胞には影響を与えず、線維化病変をはじめとする病的部位において過剰刺激を適正に制御することを示唆する可能性をさらに支持するものである。標的部特異性という観点でも、今後創薬作成を念頭に置いたPTEN4Aによる治療戦略に有用な知見と考える。

これらの知見をもとに、我々はウイルスを用いたPTEN4A遺伝子導入による効果を検証中である。肺線維症における線維芽細胞とPTENを標的にしたこれらの課題は極めて有意義なものであり、これらの実験から新たな肺線維症の治療戦略における重要な結果が得られるように継続して検証をおこなう。

## 引用文献

- 1) Hashimoto, N., H. Jin, T. Liu, S. W. Chensue, and S. H. Phan. 2004. Bone marrow-derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 113(2):243-52.
- 2) Kim, K. K., M. C. Kugler, P. J. Wolters, L. Robillard, M. G. Galvez, A. N. Brumwell, D. Sheppard, and H. A. Chapman. 2006. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops in vivo during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(35):13180-5.
- 3) Willis, B. C., J. M. Liebler, K. Luby-Phelps, A. G. Nicholson, E. D. Crandall, R. M. du Bois, and Z. Borok. 2005. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor-beta1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 166(5):1321-32.
- 4) Hashimoto, N., S. H. Phan, K. Imaizumi, M.

- Matsuo, H. Nakashima, T. Kawabe, K. Shimokata, and Y. Hasegawa. 2010. Endothelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 43(2):161-72.
- 5) Sakamoto, K., N. Hashimoto, Y. Kondoh, K. Imaizumi, D. Aoyama, T. Kohnoh, M. Kusunose, M. Kimura, T. Kawabe, H. Taniguchi, and Y. Hasegawa. 2012. Differential modulation of surfactant protein D under acute and persistent hypoxia in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 303(1):L43-53.
- 6) 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成23年度研究報告書 上皮間葉移行を含むTGFβ誘導線維化病態形成に対するPTENリン酸化部位遺伝子変異を用いた新規治療法の開発 p305
- 7) Medici, D., E. D. Hay, and B. R. Olsen. 2008. Snail and Slug promote epithelial-mesenchymal transition through beta-catenin-T-cell factor-4-dependent expression of transforming growth factor-beta3. *Mol Biol Cell* 19(11):4875-87.