

論 文 内 容 要 旨

題目 The lymphocyte-specific protein tyrosine kinase-specific inhibitor A-770041 attenuates lung fibrosis via the suppression of TGF- β production in regulatory T-cells.

(リンパ球特異的タンパク質チロシンキナーゼ特異的阻害剤 A-770041 は、制御性 T 細胞における TGF- β 産生の抑制を介して肺線維症の進行を抑制する。)

著者 Kozo Kagawa, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Takeshi Imakura, Kojin Murakami, Yuya Yamashita, Nobuhito Naito, Hirohisa Ogawa, Hiroshi Kawano, Yasuhiko Nishioka

2022 年 10 月 27 日発行 PLOS ONE 誌 第 17 巻第 10 号
e0275987 に発表済 DOI:10.1371/journal.pone.0275987

内容要旨

間質性肺炎に伴う肺線維化は肺胞上皮の慢性的な傷害とそれに引き続いて生じる線維芽細胞巢の持続的な活性化が主要な病態と考えられている。一方で、肺線維化にリンパ球の関与を指摘する報告もあるが、詳細は未だ解明されていない。

特発性肺線維症の治療に承認されているニンテダニブは、線維芽細胞の活性に関わる成長因子受容体の他、Src ファミリーに属する Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) をも阻害することが判明している。T 細胞受容体 (TCR) の活性化は、サイトカイン産生、細胞生存、増殖および分化を調節し、最終的に細胞の運命を決定する多くのシグナル伝達カスケードを促進するが、Lck はこのカスケードの上流において重要な役割を担っている。すなわち、nintedanib の抗線維化作用の一部は、Lck 阻害によるリンパ球の活性化の抑制による可能性があるが、その意義は未だ十分に検討されていない。従って、本検討ではリンパ球の発現する Lck に着目し、ブレオマイシン肺線維症マウスモデルにおける選択的 Lck 阻害剤 A-770041 の抗線維化効果を検討した。

まず、マウスより単離した CD4⁺T 細胞を用いて A-770041 の Lck リン酸化に対する効果を検討したところ、A-770041 は 100 nM 以上で用量依存的に抑制効果が見られ、マウス投与時における阻害効果が期待された。

様式(8)

次に *in vivo* における Lck 阻害効果を検討するため、経気管支的にブレオマイシン (BLM) をマウスに投与し、肺線維症モデルマウスを作成した。A-770041 を、BLM の気管内投与後第 0～10 日目 (前半投与群)、第 11～20 日目 (後半投与群)、第 0～20 日目 (全期間投与群) と、投与期間別に 3 群に分けて連日経口投与したところ、前半投与群と全期間投与群で肺線維化効果が確認された。

次に Lck 阻害の主たる標的であるリンパ球のマウス肺における動態を、FACS を用いて評価した。BLM 投与により気管支肺胞洗浄液中のリンパ球の割合は 14 日目をピークにして増加し、肺組織の CD4/8 比は経時的に増加した。次いで肺線維化のエフェクター細胞である線維芽細胞を活性化するリンパ球由来サイトカインとして TGF- β と IL-17 が報告されていたため、これらを発現するリンパ球に着目して検討したところ、TGF- β ⁺CD4⁺T 細胞の割合が BLM 投与後 7 日目より上昇していた。A-770041 投与による Lck 阻害は、肺組織中の TGF- β ⁺CD4⁺T 細胞の割合と、気管支肺胞洗浄液中の TGF- β 濃度を減少させていた。これらの結果から A-770041 は主に BLM 投与後早期において CD4⁺T 細胞由来の TGF- β 産生低下を介して線維化抑制に寄与した可能性が示唆された。

そこで次に、TGF- β 産生リンパ球の一つであり、肺線維症の病態への関与が示唆されている制御性 T 細胞 (Treg) に注目し検討を行った。ニンテダニブ及び A-770041 の投与で、BLM 投与肺組織中の Treg の割合は変動しなかったものの、TGF- β ⁺Treg の割合は減少した。マウスより単離した Treg を用いて *in vitro* で Lck 阻害効果を検討したところ、A-770041 を加えることで *Tgfb* mRNA 発現レベルの低下と、培養上清中の TGF- β 濃度の低下が認められた。以上から A-770041 は主に BLM 投与後早期において Treg の TGF- β 産生を抑制し肺線維化を軽減したと考えられた。

これらの結果から Lck 阻害は Treg の TGF- β 産生を阻害することで肺線維症の進行抑制に寄与する可能性が示唆され、ニンテダニブの抗線維化作用の一端が明らかになるとともに、肺線維症治療の標的としての Lck の重要性が示された。