

論 文 内 容 要 旨

題目 Blockade of platelet-derived growth factor receptor- $\beta$ , not receptor- $\alpha$  ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice  
(PDGF レセプター  $\alpha$  ではなく  $\beta$  の阻害がマウスにおけるブレオマイシン誘発肺線維症を改善する)

著者 Masami Kishi, Yoshinori Aono, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Momoyo Azuma, Shuichi Abe, Hiroshi Kawano, Jun Kishi, Yuko Toyoda, Hiroyasu Okazaki, Hirohisa Ogawa, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka

平成 30 年 12 月 31 日 PLoS One e0209786 に発表済

内容要旨

血小板由来成長因子 (PDGF) は肺線維症の病態に深く関与している。PDGF レセプターを含むマルチキナーゼ阻害剤であるニンテダニブは、特発性肺線維症患者の FVC 低下を減弱させる抗線維化薬として承認された。PDGF レセプターにはサブタイプとして  $\alpha$  と  $\beta$  が存在するが、それらの肺線維化に対する役割は明らかにされていない。そこで申請者は PDGF レセプター  $\alpha$ 、 $\beta$  をそれぞれ特異的に阻害する抗体である APA5、APB5 を用い、肺線維症モデルマウスに対する抗線維化効果を検証した。

まず肺線維症への関与が明らかにされているマウス肺線維芽細胞を用いて実験を行った。マウス肺線維芽細胞には PDGF レセプター  $\alpha$ 、 $\beta$  が発現していた。ウエスタンブロットの手法で APA5 の PDGF レセプター  $\alpha$  に対する特異的な阻害効果を確認した。APB5 は PDGF レセプター  $\beta$  に対する阻害が主である一方、一部 PDGF レセプター  $\alpha$  を阻害していた。次にマウス肺線維芽細胞の増殖実験を行った。PDGF-AA は PDGF レセプター  $\alpha$  を介し、PDGF-BB は主として PDGF レセプター  $\beta$  を介してシグナルを伝達する。PDGF-AA 刺激によって生じる増殖シグナルを APA5 は濃度依存的に抑制し、APB5 は全く抑制しなかった。PDGF-BB 刺激によって生じる増殖シグナルも、APB5 が濃度依存的に抑制し APA5 は抑制しなかった。細胞増殖作用においては APA5、APB5 はそれぞれ PDGF レセプター  $\alpha$ 、 $\beta$  シグナルに特異的に作用していると考えられた。

次にブレオマイシンを経皮的に投与する肺線維症モデルマウスを用いて実験を行った。APA5 と APB5 を投与した群での肺線維化は明確に異なっていた。APB5

## 様式(8)

投与群において肺線維化の抑制効果が認められる一方、APA5 投与群では抑制効果は全く確認できなかった。それぞれの群に生じている変化を検証するため、マウス肺組織の細胞増殖やアポトーシス、気管支肺胞洗浄液中の細胞分画、肺のリモデリングに関わるⅡ型肺胞上皮細胞の変化等を確認した。APB5 はブレオマイシン投与後早期の気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞増加と、肺胞上皮細胞のアポトーシスを抑制した。またブレオマイシン投与後に見られたⅡ型肺胞上皮細胞の増大を抑制した。APA5 は気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞を増加させ、肺胞上皮細胞のアポトーシス、Ⅱ型肺胞上皮細胞の増大に影響を与えなかった。APA5 投与は抗線維化効果を得られないだけでなく、早期の炎症の増悪による何らかの有害事象に結び付く可能性が示された。

次に PDGF レセプター  $\alpha$ 、 $\beta$  の発現について、改めて免疫組織化学染色を用いて確認を行った。 $\alpha$  と  $\beta$  の局在は異なる印象であった。PDGF レセプターと線維芽細胞、肺胞上皮細胞との分布をそれぞれ  $\alpha$ -平滑筋アクチンと EpCAM 染色を用いた 2 重染色で観察したところ、肺胞上皮細胞には PDGF レセプターは発現しておらず、線維芽細胞には発現していた。

最後に、APB5 を投与するタイミングを限定して実験を行った。我々の使用した肺線維症モデルマウスはブレオマイシン投与開始から 28 日目にサクリファイスに至る期間のうち、前半は炎症が主体の期間、後半は線維化が生じていく期間と位置づけられる。ヒトの肺線維症に炎症の関与する割合は低いと考えられており、後半投与で効果が得られることが治療的な意義があると期待される。APB5 は後半投与でも明らかな抗線維化効果を示すことができた。PDGF レセプター  $\beta$  の阻害抗体は、PDGF レセプター  $\alpha$  阻害の潜在的なリスクも避けられ、治療薬としての実用性がある可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1400</b> 号	氏名	岸 昌美
審査委員	主査 香美祥二 副査 安友康二 副査 常山幸一		

題目 Blockade of platelet-derived growth factor receptor- $\beta$ , not receptor- $\alpha$  ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice  
 (PDGF レセプター  $\alpha$  ではなく  $\beta$  の阻害がマウスにおけるブレオマイシン誘発肺線維症を改善する)

著者 Masami Kishi, Yoshinori Aono, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Momoyo Azuma, Shuichi Abe, Hiroshi Kawano, Jun Kishi, Yuko Toyoda, Hiroyasu Okazaki, Hirohisa Ogawa, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka  
 平成30年12月31日 PLoS One e0209786 に発表済  
 (主任教授 西岡安彦)

要旨 特発性肺線維症 (IPF) は慢性進行性の予後不良な肺線維化疾患である。近年、血小板由来成長因子レセプター (PDGFR) を含むマルチキナーゼ阻害薬であるニンテダニブが IPF に対する抗線維化薬として承認されている。しかしながら、その臨床効果は十分ではなく新たな治療薬の開発が求められている。一方、PDGFR にはサブタイプとして  $\alpha$  と  $\beta$  が存在するが、それらの肺線維化における役割は明らかではない。そこで申請者らは PDGFR  $\alpha$  と  $\beta$  をそれぞれ特異的に阻害する抗体である APA5、APB5 を用い、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルマウスにおける抗線維化効果と作用機序について検討した。

得られた結果は以下のとおりである。

- 1) フローサイトメトリー法による解析から肺線維芽細胞に PDGFR  $\alpha$  および  $\beta$  の発現が確認されたが、肺胞上皮細胞には

いずれの発現も確認されなかった。

- 2) ウェスタンブロッティング法による解析から、APA5はPDGFR $\alpha$ のリン酸化を阻害したが、PDGFR $\beta$ のリン酸化を阻害しなかった。一方、APB5はPDGFR $\beta$ のリン酸化を強く阻害し、PDGFR $\alpha$ に対しても軽度のリン酸化阻害効果を示した。
- 3) APA5はPDGF-AA刺激による肺線維芽細胞の増殖を抑制したがPDGF-BB刺激による増殖を抑制せず、逆にAPB5はPDGF-BB刺激による増殖を抑制したがPDGF-AAによる増殖は抑制しなかった。
- 4) ブレオマイシン肺線維症モデルにおいてAPB5投与は抗線維化効果を示したが、APA5は示さなかった。
- 5) APB5投与により肺間質細胞の増殖抑制と肺胞上皮のアポトーシスおよび過形成抑制作用が認められたが、これらの作用はAPA5には認められず、逆に早期の好中球を主体とする炎症の増強が認められた。
- 6) APB5の投与開始を遅らせた肺線維症治療モデルの実験系においてもAPB5は抗線維化効果を示した。

以上から、肺線維症の治療においてはPDGFR $\alpha$ ではなく $\beta$ の阻害が重要であり、抗PDGFR $\beta$ 阻害抗体を用いることで肺局所の炎症を悪化させることなく抗線維化効果を期待できる可能性が示唆された。

本研究は、IPFに対する疾患分子病態の解明と、新たな治療法の開発研究に寄与するところ大であり、学位授与に値すると判定した。