

論 文 内 容 要 旨

題目 A homozygous SFTPA1 mutation drives necroptosis of type II alveolar epithelial cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis

(ホモ接合型 SFTPA1 変異により特発性肺線維症患者の II 型肺胞上皮細胞の necroptosis が亢進する)

著者 Akio Takezaki, Shin-ichi Tsukumo, Yasuhiro Setoguchi, Julie G. Ledford, Hisatsugu Goto, Kazuyoshi Hosomichi, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka, Koji Yasutomo

2019 年 12 月発行 The Journal of Experimental Medicine 第 216 巻第 12 号 2724 ページ～2735 ページに発表済

内容要旨

特発性肺線維症(IPF)は多くの場合 50 歳以上で発症し、その発症には喫煙との関連が高いことが知られている。発症率として 10 万人あたり 10～20 人とされているが、未発症で診断がついていない例を含めると更に頻度は高いと考えられている。IPF は診断後早期に死亡することが多いことから、その病態解明と治療薬開発が求められているが、未だ死亡率を劇的に改善させる薬剤は開発されていないのが現状である。IPF の大半は孤発性に発症するが、稀に家族性 IPF もあることが知られており、*TERC* や *TERT* などのテロメラーゼ関連の遺伝子あるいはサーファクタントプロテイン C(*SPC*)の遺伝子異常が報告されている。しかし、家族性 IPF の中でも 70%以上はその原因遺伝子が不明である。以上から、申請者らは家族性 IPF の未知の原因遺伝子を同定する研究から、IPF の病態解明と治療標的同定を目指した。今回の研究において、近親婚歴を有する家族性 IPF の家系例のゲノムサンプルを用いた連鎖解析、ホモ接合体マッピング、エクソーム解析により、その原因となる変異として *SFTPA1* のミスセンス変異を同定した。*SFTPA1* のミスセンス変異は *SFTPA1* 分子の分泌を障害させる変異であることが明らかになった。*SFTPA1* のミスセンス変異がどのように IPF の発症に関与するかを知るために、マウスの *Sftpa1* にヒトと同変異を導入した *Sftpa1* ノックイン(*Sftpa1*-KI)マウスを樹立した。*Sftpa1*-KI マウスでは、約 40 週齢頃からマウスが肺線維症で死亡し始めることが観察され、ヒト疾患を正確に模倣しているマウスであると考えられた。また、*Sftpa1*-KI マウスにインフルエ

## 様式(8)

ンザウイルスを感染させると、肺線維症が急性増悪することも観察された。Sftpa1-KI マウスの肺組織を検証した結果、II型肺胞上皮細胞(AE II細胞)の細胞死が亢進していることが観察され、necroptosis がその細胞死に関与していることが明らかになった。実際に、Sftpa1-KI マウスにおいて、necroptosis の制御分子である *Mkl1* 遺伝子を欠損させると肺線維症の発症が抑制されることが観察された。次に、necroptosis の亢進の機序について解析を行ったところ、IRE1 $\alpha$  経路とそれに引き続く JNK が活性化し、その結果 RIPK3 の発現が亢進していることを見出した。RIPK3 が AE II 細胞で過剰に発現することによって AE II 細胞の necroptosis への感受性が亢進していることも明らかになり、それが *SFTPA1* 変異による IPF 発症の起点であることが解明された。本研究により、IPF の原因となる新たな遺伝子が明らかになり、未解明であった IPF の発症機序として necroptosis の亢進が明らかになった。また、その上流経路として小胞体ストレスの亢進が寄与していることも解明された。以上の成果から、necroptosis および ER ストレス経路が IPF の新たな治療標的になり得ると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1457</b> 号	氏名	竹崎彰夫
審査委員	主査 安倍正博 副査 松本 満 副査 石丸直澄		

題目 A homozygous SFTPA1 mutation drives necroptosis of type II alveolar epithelial cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis  
 (ホモ接合型 SFTPA1 変異により特発性肺線維症患者の II 型肺胞上皮細胞の necroptosis が亢進する)

著者 Akio Takezaki, Shin-ichi Tsukumo, Yasuhiro Setoguchi, Julie G. Ledford, Hisatsugu Goto, Kazuyoshi Hosomichi, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka, and Koji Yasutomo  
 令和元年 12 月 2 日発行 The Journal of Experimental Medicine  
 第 216 巻第 12 号 2724 ページから 2735 ページに発表済  
 (主任教授 西岡安彦)

要旨 特発性肺線維症 (IPF) は、原因不明で進行性の肺線維化を特徴とし、平均生存期間が 3 年未満と予後不良の慢性肺疾患である。IPF の大半は孤発性に発症するが、稀に家族性の IPF も知られており、サーファクタントプロテイン (SP) -C などの遺伝子異常が報告されているものの家族性 IPF の 70% 以上は原因不明である。

申請者らは、近親婚歴を有する家族性 IPF 家系のゲノムサンプルを用いて原因遺伝子の同定、細胞分子病態の解明および治療標的の同定を試みた。得られた結果は以下の通りである。

1. 連鎖解析、ホモ接合体マッピング、エクソーム解析により、IPF の原因となる変異として SP-A 遺伝子 *SFTPA1* のミスセンス変異 T622C を同定した。

2. ヒトと同じ遺伝子変異を導入したノックインマウス (Sftpa1-KI) は肺線維症を自然発症し、40 週齢頃から死亡するマウスが増加した。

3. Sftpa1-KI マウスはインフルエンザウイルス感染により肺線維症が急性増悪し早期に死亡した。

4. Sftpa1-KI マウス肺ではⅡ型肺胞上皮細胞の細胞死が亢進しており、receptor interacting serine/threonine kinase 3 (RIPK3) および mixed lineage kinase-like (MLKL) 遺伝子をノックアウトした Sftpa1-KI マウス (Sftpa1-KI;Ripk3<sup>-/-</sup> および Sftpa1-KI;Mlkl<sup>-/-</sup>) では細胞死および肺線維症が軽減したことから、その細胞死に necroptosis の関与が示唆された。

5. Ⅱ型肺胞上皮細胞の解析から、遺伝子変異を有する SP-A 蛋白質は分泌障害により小胞体ストレスを惹起し、inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$  経路とそれに続く JNK の活性化を介して RIPK3 の発現を亢進することが示された。

6. JNK 阻害薬は Sftpa1-KI マウスのインフルエンザウイルス感染による急性増悪を改善した。

以上から、IPF の発症原因として SFTPA1 遺伝子変異の重要性および発症機序として小胞体ストレスからの necroptosis 経路の関与が明らかとなった。

本研究は、IPF の病態解明および小胞体ストレス-necroptosis 経路を標的とした新たな治療薬開発に寄与すること大であり、学位授与に値すると判定した。