

論 文 内 容 要 旨

題目 Blockade of Pan-Fibroblast Growth Factor Receptors Mediates Bidirectional Effects in Lung Fibrosis

(汎 FGF 受容体阻害は肺線維症に対して二面性の作用を示す)

著者 Shun Morizumi, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Hiroyasu Okazaki, Yajuan Chen, Hisatsugu Goto, Kozo Kagawa, Hirohisa Ogawa, Haruka Nishimura, Hiroshi Kawano, Yuko Toyoda, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka

令和 2 年発行

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology
誌に掲載予定

内容要旨

特発性肺線維症は、生存期間中央値が 3~4 年とされる予後不良の難治性疾患であるが、その病因は未だ不明な点が多く治療法は限定されている。線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor : FGF) は、肺線維症の病因に関連する主要な因子の一つであり、FGF 受容体 (FGFR)、血小板由来増殖因子受容体 (platelet-derived growth factor receptor : PDGFR)、血管内皮増殖因子受容体 (vascular endothelial growth factor receptor : VEGFR) を主な標的とするチロシンキナーゼ阻害薬であるニンテダニブは、特発性肺線維症に対する努力性肺活量の年間低下率に対する抑制効果が示されている。

これらの受容体阻害の検討において、PDGFR 阻害や VEGFR 阻害の抗線維化効果については複数の既報告がある。しかしながら、FGF/FGFR シグナル伝達阻害が肺線維症に及ぼす影響については一定の見解が得られていない。

本研究では、肺線維芽細胞と肺胞上皮細胞における FGF シグナル伝達に焦点を当て、治療的観点から、汎 FGFR 阻害薬 BGJ398 を用いて、その抗線維化効果や肺胞上皮細胞への影響を検討した。

まず、マウス肺線維芽細胞及び肺胞上皮細胞における FGFR 発現について評価を行った。ウェスタンブロット法による検討の結果、マウス肺線維芽細胞では FGFR1, 2, 3 の発現を、マウス肺胞上皮細胞でも FGFR2, 3 の発現を認めた。またフローサイトメトリーを用いた検討から、マウス初期培養肺胞上皮細胞におい

様式(8)

でも FGFR2 の発現を確認した。

次に、 $[^3\text{H}]$ -チミジン取り込みアッセイを用いて、肺線維芽細胞と肺胞上皮細胞の増殖能に BGJ398 が及ぼす効果を評価した。BGJ398 は、FGF2 刺激による両細胞の増殖を用量依存的に抑制した。トランスウェルアッセイを用いた細胞遊走能に対する検討においても、BGJ398 は FGF2 刺激下での肺線維芽細胞の遊走を用量依存的に抑制した。

次に *in vivo* における FGFR 阻害効果を検討するため、経気管支的にブレオマイシンをマウスに投与し、ブレオマイシン誘発肺線維症モデルを作成した。同マウスに BGJ398 20mg/kg を連日経口投与し、21 日目に肺組織を採取した。BGJ398 投与群では非投与群と比して早期の段階で体重減少を来し、生存率を悪化させた。しかし、ヒドロキシプロリンアッセイによる組織内コラーゲンの定量と、アシュクロフトスコアによる肺組織所見の評価において、BGJ398 投与群は非投与群と比較し有意に肺線維化を抑制していた。

BGJ398 投与 5 日目の肺組織において、肺胞上皮マーカーとして pro-SPC、増殖マーカーとして Ki-67 を使用し蛍光多重免疫染色を行うことで、肺胞上皮細胞の増殖・再生状態について検討した。その結果、BGJ398 投与群では非投与群に比し、増殖を示す肺胞上皮細胞数の有意な減少を認めた。更に、肺血管透過性への影響を評価するため、BGJ398 投与 7 日目のマウスにエバンスブルーを尾静脈内投与し、気管支肺胞洗浄液中に漏出したエバンスブルー濃度を測定した。BGJ398 投与群は非投与群に比較しエバンスブルー濃度の上昇を認め、肺血管透過性の亢進が示唆された。

以上の結果から、BGJ398 による FGFR シグナル伝達経路の阻害は、線維芽細胞の増殖、遊走を阻害することで抗線維化作用を示す一方、肺胞上皮傷害の増強と回復遅延を惹起し、結果として生体にとって有害な作用を生じるという 2 面性を持つことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1460 号	氏名	森住 俊
審査委員	主査 安倍 正博 副査 安友 康二 副査 常山 幸一		

題目 Blockade of Pan-Fibroblast Growth Factor Receptors Mediates Bidirectional Effects in Lung Fibrosis

(汎 FGF 受容体阻害は肺線維症に対して二面性の作用を示す)

著者 Shun Morizumi, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Hiroyasu Okazaki, Yajuan Chen, Hisatsugu Goto, Kozo Kagawa, Hirohisa Ogawa, Haruka Nishimura, Hiroshi Kawano, Yuko Toyoda, Hisanori Uehara, Yasuhiko Nishioka
 令和 2 年発行 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 誌に掲載予定
 (主任教授 西岡 安彦)

要旨 特発性肺線維症は、生存期間中央値が 3~4 年とされる予後不良の難治性疾患だが、その病因には未だ不明な点が多い。線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor : FGF) は、肺線維症の病因に関連する主要な因子の一つとされているが、FGF/FGF 受容体 (FGFR) シグナル伝達阻害が肺線維症に及ぼす影響については一定の見解が得られていない。

そこで申請者らは、肺線維芽細胞と肺胞上皮細胞における FGF シグナルに焦点を当て、治療的観点から、汎 FGFR 阻害薬 BGJ398 を用いて、その抗線維化効果や肺胞上皮細胞への影響を検討した。得られた結果は、以下の通りである。

1) マウス由来肺線維芽細胞と肺胞上皮細胞の両方が FGFR を

発現していた。

- 2) BGJ398 は、FGF2 刺激による肺線維芽細胞と肺胞上皮細胞の増殖能および肺線維芽細胞の遊走能を用量依存的に抑制した。
- 3) ブレオマイシン誘発肺線維症マウスモデルを用いた検討の結果、BGJ398 投与はマウスの体重減少を来し生存率を悪化させた。一方、組織内コラーゲンの定量と肺組織所見の評価では肺線維化を抑制した。
- 4) マウス気管支肺胞洗浄液へのエバンスブルー色素漏出試験の結果、BGJ398 投与による肺血管透過性の亢進が観察された。
- 5) BGJ398 投与は、ブレオマイシン肺傷害後の肺胞上皮細胞の増殖を阻害した。

以上の結果から、BGJ398 による FGFR シグナル伝達経路の阻害は、線維芽細胞の増殖と遊走の抑制を介した抗線維化作用を示す一方、肺胞上皮傷害の増強と回復遅延を惹起し、結果として生体にとって有害な作用を生じるという 2 面性を持つことが示された。

本研究は、線維化促進に働くとされる FGF/FGFR シグナルが、治療標的としては望ましくない可能性を示しており、今後の特発性肺線維症の治療薬開発における臨床的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。