

角川智之 論文内容の要旨

主論文

Pirfenidone Attenuates Expression of HSP47 in
Murine Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis
(ピルフェニドンはマウスブレオマイシン肺線維症における
HSP47 発現を抑制する)

Tomoyuki Kakugawa, Hiroshi Mukae, Tomayoshi Hayashi, Hiroshi. Ishii,
Koh Abe, Takeshi Fujii, Hisashi Oku, Masanobu Miyazaki, Jun-ichi Kadota,
and Shigeru Kohno

European Respiratory Journal. 24: 57-65: 2004

長崎大学大学院医学研究科 新興感染症病態制御学系専攻
(指導教授：河野 茂 教授)

緒言

Heat shock protein (HSP) 47 は、小胞体内に存在するコラーゲン特異的分子シャペロンであり、小胞体内でのプロコラーゲンの生合成とゴルジ装置への輸送過程において、フォールディング、凝集および分解阻害、品質管理、輸送の各所で働いていると考えられている。肝硬変、腎硬化症、腹膜硬化症など、さまざまな線維化疾患の進展に HSP47 が密接に関与していることが報告されており、近年、肺線維症の進展過程においても HSP47 が重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。肺線維症の主要な病態は、細胞外基質 (extracellular matrix ; ECM) の過剰な蓄積であり、ECM の大部分はコラーゲンである。従って、コラーゲン産生に欠かせない HSP47 が線維化進展のキーファクターとなることが想定されてきた。

ピルフェニドンは抗線維化作用を有することが知られており、各種線維化疾患モデル動物において線維化を抑制することが報告されてきた。また、特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) 患者を対象とした臨床試験においてもその有効性が示されている。しかし、その作用機序については未だ十分に

明らかにされていない。そこで今回、ピルフェニドンが HSP47 の発現に及ぼす影響について検討した。

方法

ICRマウスにブレオマイシン10mg/kg/dayを5日間連続尾静脈投与し、肺線維症モデルを作成した。ブレオマイシン投与2週間後より0.5% carboxymethylcellulose (CMC)に溶解したピルフェニドン(400mg/kg/day)を、またcontrol drugとして同量の0.5%CMCを連日経口投与した。マウスは1)生理食塩水を静注し、control drugを投与したコントロール群、2)ブレオマイシンを静注し、control drugを投与したブレオマイシン肺線維症群、3)ブレオマイシンを静注しピルフェニドンを投与した治療群の3群に分けた。ブレオマイシン投与7週間後に各群の線維化の程度を組織学的に評価した。また、肺組織中のヒドロキシプロリン量を測定し、線維化の程度を生化学的に評価した。免疫染色によりHSP47の発現程度を病理学的に評価した。筋線維芽細胞を同定するために α -smooth muscle actin (SMA)、マクロファージを同定するためにF4/80の免疫染色を行ない、それぞれの細胞の浸潤程度を病理学的に評価した。

結果

コントロール群と比較して、ブレオマイシン肺線維症群では組織学的な線維化スコア、ヒドロキシプロリン量ともに有意に高値を示した。一方、ピルフェニドンによる治療群ではブレオマイシン肺線維症群と比較して線維化は有意に抑制されていた。また、免疫染色による検討にて、ブレオマイシン肺線維症群ではコントロール群と比較してHSP47陽性線維芽細胞、 α -SMA陽性筋線維芽細胞、F4/80陽性マクロファージの著明な浸潤を認めた。一方、治療群ではブレオマイシン肺線維症群と比較してそれぞれの細胞の浸潤程度は有意に抑制されていた。また、ブレオマイシン肺線維症群ではII型肺胞上皮細胞における強いHSP47の発現を認めたが、治療群では有意に抑制されていた。

考察

HSP 47陽性線維芽細胞、 α -SMA陽性筋線維芽細胞は活発なプロコラーゲン産生能を有し、肺線維症の進展に重要な役割を果たしている。HSP47はコラーゲン合成に必須の分子シャペロンであり、HSP47発現を抑制することにより、

コラーゲン産生量を低下させることができる可能性がある。既に、HSP47に対するantisense oligonucleotideを投与することにより、糸球体腎炎の線維化進展を抑制することに成功した動物実験の報告がなされている。我々は、HSP47の発現や、筋線維芽細胞の浸潤増殖を抑制することがIPFの治療に重要であると考えてきた。今回の結果は、ピルフェニドンがHSP47の発現や筋線維芽細胞の浸潤増殖を抑制する効果を有していることを示している。

また、今回我々は肺線維症の進展とともに線維芽細胞だけでなく、II型肺胞上皮細胞もHSP47を発現することを明らかにした。これはII型肺胞上皮細胞もコラーゲン産生能を獲得し、積極的に肺の線維化に関与していることを示唆する所見である。しかも、ピルフェニドン投与により、その発現は有意に抑制されていた。近年、上皮細胞が肺線維化過程において重要な役割を果たすことが注目されてきている。我々は、HSP47を高発現しているII型肺胞上皮細胞が新たな治療のターゲットとなりうると考えてきた。今回の知見は、ピルフェニドンが上皮細胞の形質転換を抑制する可能性も示唆しており興味深い。

今後、ピルフェニドンの作用機序をより詳細に明らかにするために、in vitroでの検討が必要であると考えられた。