

イマチニブは線維細胞の遊走と分化を制御することで閉塞性細気管支炎の気道閉塞を抑える

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-12-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Watanabe , Satoshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00049312

【総説】

第15回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Imatinib ameliorates bronchiolitis obliterans via inhibition of fibrocyte migration and differentiation」
 J Heart Lung Transplant 36(2):138-147 2017年2月掲載
 Satoshi Watanabe, Kazuo Kasahara, Yuko Waseda,
 Hazuki Takato, Shingo Nishikawa, Taro Yoneda, Johsuke Hara,
 Takashi Sone, Miki Abo, Hideharu Kimura, Shinji Nakao

「イマチニブは線維細胞の遊走と分化を制御することで閉塞性細気管支炎の気道閉塞を抑える」

渡辺 知志 (わたなべ さとし)

背景

閉塞性細気管支炎 (Bronchiolitis obliterans : BO) は、細気管支周囲に線維化が起こり、細気管支が狭窄・閉塞する疾患である。BOの原因として、肺移植、造血幹細胞移植、感染症、膠原病、薬剤、有毒ガスの吸入などが知られている。BOは肺移植後の約50%、造血幹細胞移植後の約5.5～14%に発症することから、移植後の合併症として近年注目されている¹⁾。BOは不可逆性の閉塞性換気障害を引き起こし、移植の成績を左右する重大な予後因子である。いまだ有効な治療法は存在せず、BOの病態解明と新しい治療戦略が望まれる。

我々は、造血幹細胞移植後に発症したBOに対し、イマチニブ治療により肺機能が安定化し、長期生存が得られた2症例を経験した²⁾。イマチニブは、Bcr-Abl, c-Abl, c-Kit, PDGF受容体のチロシンキナーゼ活性阻害薬であり、慢性骨髄性白血病や消化管間質腫瘍に対する標準治療として用いられる。一方、最近ではイマチニブがPDGFを介して線維芽細胞の増殖や遊走を抑制し、線維化抑制作用を示すことも報告されている³⁾。したがって先の2症例では、イマチニブが細気管支周囲の線維化を制御することによって、閉塞性換気障害の進行を抑えたのではないかと考えられた。

臓器の線維化においては、組織由来の線維芽細胞、骨髄由来の線維細胞、血管周皮細胞、上皮間葉転換などの関与が知られている。このうち、我々は線維細胞の働きに注目した。線維細胞は、血球マーカー (CD45, CD34) や間葉系マーカー (collagen I) を発現し、末梢血の0.1-0.5%に存在する骨髄由来の間葉系前駆細胞である⁴⁾。様々な臓器の線維化に関わっているが、近年BOの発症や進展にも関与することが報告されている。

そこで我々は動物モデルを用いて、BOに対するイマチニブの効果、BOの病態における線維細胞の働き、イマチニブによる抗線維化メカニズム等について検討した⁵⁾。

結果と考察

異所性気管移植によるBOモデルを用いて実験を行った。これは2匹のマウスを用いて、一方のマウスの気管

を摘出し、もう一方のマウスの背部皮下に移植したのち、一定期間後に移植気管を評価するという手法である。ドナーとレシピエントのいずれもをBALB/cとした同系移植群 (Isograft) と、ドナーをC57BL/6、レシピエントをBALB/cとした異系移植群 (Allograft) を作製した。いずれの群も移植後に気道上皮の傷害・脱落を起こしたが、Isograftでは気道上皮は再生し、気道閉塞は起こらなかった。一方Allograftでは、気道上皮は再生せず、移植後28日目までに気道は閉塞した。このAllograftに対し、イマチニブを連日投与したところ、移植後28日目における気道閉塞は有意に抑制された (図1)。したがって、イマチニブはBOモデルの気道閉塞を抑えることが示された。

BOモデルには、①急性拒絶反応により上皮傷害が起こる傷害期 (移植後1～3日)、②リンパ球やマクロファージが遊走・浸潤する炎症期 (移植後4～14日)、③線維芽細胞が浸潤し気道閉塞が起こる線維増殖期 (移植後15～28日)、の3つの段階が存在することが知られている。前述の如く、イマチニブは線維化を抑えることが予想されたが、線維増殖期である移植後15～28日にイマチニブを投与しても、気道閉塞を抑えることはできなかった (図1)。気道閉塞を抑えるには、移植後早期 (傷害期、炎症期) よりイマチニブを投与することが必要であった。そこで、イマチニブは移植後早期に遊走される

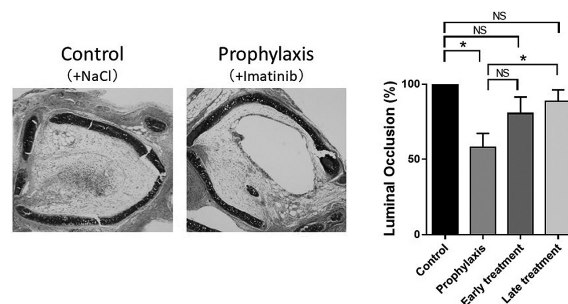


図1. BOモデル (移植28日後) における気道閉塞
 Control : NaCl投与, Prophylaxis : 移植後1～28日に Imatinib投与, Early Treatment : 移植後1～14日に Imatinib投与, Late Treatment : 移植後15～28日に Imatinib投与. * P<0.05.

骨髓由来の線維細胞を標的にしている可能性を考えた。

BOモデルにおける線維細胞の関与を調べるため、Green fluorescent protein (GFP) 標識されたC57BL/6-Tg^{CAG-EGFP}マウスの骨髓をC57BL/6マウスに移植したGFPキメラマウスを作製した。BALB/cマウスの気管をGFPキメラマウスに移植したところ、移植気管に浸潤した細胞の75%はGFP陽性であった。その中には紡錘形の細胞を認め、免疫染色ではcollagen I陽性で、これは線維細胞に特徴的な所見であった。以上より、BOモデルにおける移植気管の気道閉塞にレシピエント由来の線維細胞が関与することが示唆された。

次に、BOモデルにおける線維細胞の動態とイマチニブの効果を検討した。BOモデルにおける移植気管内の線維細胞数 (CD45⁺/pro-collagen I⁺) は、移植後7日目をピークに増加し、その後経過で減少した。移植後3, 7日目において、AllograftはIsograftよりも有意に線維細胞数が増加していた。Allograftにイマチニブを投与したところ、移植気管内の線維細胞数は有意に抑制された(図2)。なお、Allograftにイマチニブを投与しても、移植気管内におけるマクロファージ数、単球数、リンパ球数、好中球数、血管内皮細胞と血管周皮細胞の割合に変化はみられなかった。以上より、BOモデルにおいて、イマチニブは線維細胞を制御することにより気道閉塞を抑えることが示唆された。

さらに線維細胞に対するイマチニブの効果を検討するため、ヒトCD14⁺単球由来の線維細胞を用いて次の実

験を行った。Boyden-chamber法を用いて、線維細胞の遊走能に対するイマチニブの効果を検討した。PDGF-AA, PDGF-BB, SCFを添加したところ、PDGF-BBで線維細胞の遊走能が有意に亢進した。線維細胞の遊走能は、イマチニブにより用量依存性に抑制された。次に、線維細胞の分化能に対するイマチニブの効果を検討した。イマチニブは線維細胞の分化能を用量依存性に抑制した。線維細胞の分化能に関わる標的因子を調べるため、c-Abl阻害薬、PDGFR阻害薬、c-Kit阻害薬を添加したところ、c-Abl阻害薬添加によりCD14⁺単球から線維細胞への分化が有意に抑制された。最後に、siRNAを用いてc-Ablを選択的にノックダウンしたところ、線維細胞の分化能が有意に阻害された。以上の所見から、イマチニブはPDGF-BB/PDGFRβ経路の抑制を介して線維細胞の遊走能を抑えるとともに、c-Ablチロシンキナーゼ経路を抑制することにより、CD14⁺単球から線維細胞への分化を抑えることが示唆された。

結 論

本研究により、イマチニブはBOの気道閉塞を抑える効果があり、そのメカニズムは線維細胞の遊走と分化の制御であることが示された(図3)。また、線維細胞の遊走にはPDGF-BB/PDGFRβ経路が、単球から線維細胞への分化にはc-Ablチロシンキナーゼ経路が関与していることが示された。イマチニブはBOの治療薬として期待されるが、今後は臨床試験を通して、その有効性や安全性を検証する必要がある。また、線維細胞が気道閉塞に関与していることが示唆された。さらに臨床において、線維細胞がBOの発症や進展の新たなバイオマーカーとなり得るかどうかは、今後の研究課題である。

文 献

- 1) Barker AF, Bergeron A, *et al.* Obliterative bronchiolitis. *N Engl J Med* 2014;370:1820-8.
- 2) Watanabe S, Waseda Y, *et al.* Imatinib for bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015;50:1250-2.
- 3) Nishioka Y, Azuma M, *et al.* Targeting platelet-derived growth factor as a therapeutic approach in pulmonary fibrosis. *J Med Invest* 2013;60:175-83.
- 4) Reilkoff RA, Bucala R, *et al.* Fibrocytes: emerging effector cells in chronic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2011;11:427-35.
- 5) Watanabe S, Kasahara K, *et al.* Imatinib ameliorates bronchiolitis obliterans via inhibition of fibrocyte migration and differentiation. *J Heart Lung Transplant* 2017;36:138-47.

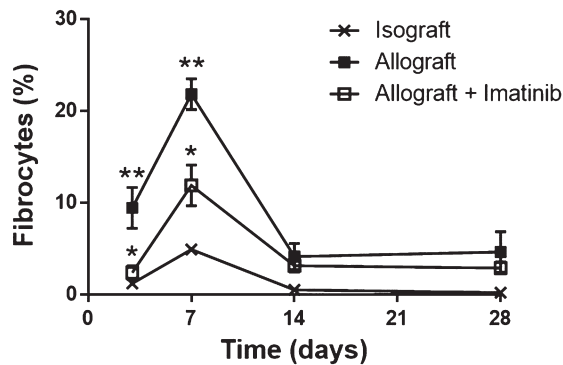


図2. BOモデルにおける移植気管内の線維細胞数
** P < 0.05, Isograft vs Allograft. * P < 0.05, Allograft vs Allograft + Imatinib

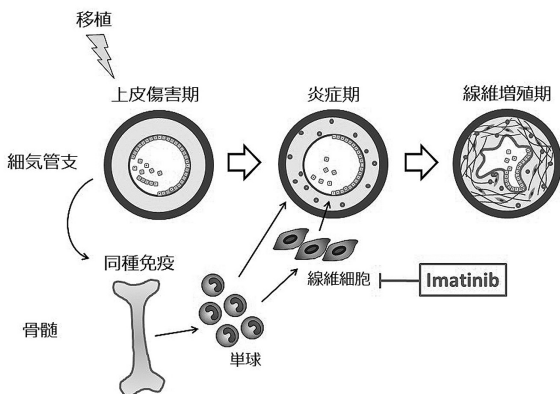
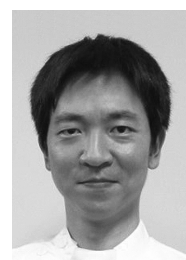


図3. BOにおける線維細胞の関与とイマチニブの効果



Profile

2008年3月 金沢大学医学部医学科卒業
 2016年9月 金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学 博士課程修了
 2017年9月 Northwestern University, Division of Pulmonary and Critical Care Medicine 博士 研究員
 専門分野: 呼吸器内科学, びまん性肺疾患