

シリカ微細粒子による慢性肺線維症を抑える新しい免疫メカニズムの発見

1. 発表者：

七野 成之（東京大学大学院医学系研究科 分子予防医学分野 博士課程2年生）
上羽 悟史（東京大学大学院医学系研究科 分子予防医学分野 講師）
松島 綱治（東京大学大学院医学系研究科 分子予防医学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆シリカ微細粒子が引き起こす慢性肺線維症の病巣のびまん化（注1）を、骨髄由来の炎症性マクロファージ（注2）が抑えていることをマウスで発見した。
- ◆シリカ微細粒子による慢性肺線維化病巣の結節性からびまん性への変化、それに伴う肺組織細胞の活性化を抑制している細胞種を初めて発見した。
- ◆炎症性マクロファージが慢性肺線維症を抑制する分子メカニズムを解明することで、微細粒子による慢性肺障害の新規治療法開発に役立つことが期待される。

3. 発表概要：

PM2.5（注3）の構成物質の一つである、マイクロメートル以下のサイズのシリカ微細粒子は、水に不溶なため継続的に吸引することにより肺に蓄積し、線維化病巣を形成する慢性肺線維症を引き起こすことが知られています。それら病巣の拡大による気管支狭窄やガス交換不全などにより、最終的に呼吸困難、死に至ります。有効な治療法は未だ存在しないため、治療法の早急な開発が望まれています。

肺のマクロファージは、吸入された微細粒子の取り込みなど、肺における微細粒子への免疫応答で重要な免疫細胞の一つです。その大部分を占める骨髄由来の炎症性マクロファージが、シリカ微細粒子によって引き起こされる慢性肺線維症に対して、どのように関与しているのかは不明でした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の松島 綱治教授、七野 成之大学院生、上羽 悟史講師、森川 鉄平講師、金沢大学の橋本 真一教授、東海大学の稲垣 豊教授らの研究グループは、シリカ微細粒子によって起きる線維化病巣の拡大と組織細胞の活性化を、骨髄由来の炎症性マクロファージが抑制していることを発見しました。骨髄由来の炎症性マクロファージの、末梢組織への浸潤が起こらない遺伝子欠損マウスで解析したところ、シリカ微細粒子によって誘導された線維化病巣がびまん化し、拡大することが分かりました。びまん化した慢性肺線維症病変は、最も予後不良なヒト慢性肺線維症である、特発性肺線維症の特徴の一つであることから、次に本研究グループはヒトの特発性肺線維症との類似性を、遺伝子レベルで網羅的に検証しました。その結果、この遺伝子欠損マウスの肺組織細胞での遺伝子発現パターンは、ヒトの特発性肺線維症の発現パターンに、野生型マウスと比べてより近いことが明らかとなったことから、このマウスでの知見をヒトに応用できる可能性があります。このシリカ誘導肺線維症の新しい免疫抑制機構の発見は、シリカ微細粒子が引き起こす慢性肺線維症に対する、新たな治療標的の開発に役立つと期待されます。

本研究は、国立研究開発法人 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業「慢性炎症」領域の研究課題「慢性炎症に伴う臓器線維化の分子・細胞基盤（平成27年4月1日に日本医療研究開発機構（AMED）が設立されたことに伴い、本研究課題はAMEDに承継され、引き続き研究開発の支援が実施されています）」などの支援を受けて行われました。

本研究成果は、2015年10月8日（米国東部時間）に米国科学誌「The American Journal of Pathology」のオンライン速報版で公開されます。

4. 発表内容：

<研究の背景>

シリカ微細粒子を吸入することで発症する珪肺や、原因不明の特発性肺線維症などの慢性肺線維症は、未だ有効な治療法がなく、肺の機能不全から死に至る病気です。主要な免疫細胞の一つである肺の様々なマクロファージは、微細粒子や死細胞の取り込み、それに伴う炎症性サイトカインや成長因子の分泌による、肺胞壁の肥厚・肺胞構造の破壊・気管支狭窄などの肺リモデリングの制御などを通じ、急性肺傷害および慢性肺線維症の両者においてマクロファージの種類によって異なる重要な働きを担っていると考えられています。実際にブレオマイシン（注4）投与により一時的に肺線維症を起こしたマウスモデルでは、肺マクロファージの一つである肺胞マクロファージ（注5）が肺障害を促進すること、またヒトの線維化病巣においても一部でマクロファージが増加していることが知られています。しかし、主要な肺マクロファージの一つである、骨髄由来の炎症性マクロファージが、慢性肺線維症においてどのような役割を担っているのかは分かっていませんでした。

<研究内容>

① 線維化病態の進行と、各マクロファージの応答との相関関係の解明

本研究グループは、まずどの種類のマクロファージが、線維化病態の進行に反応して増減するのかを、自然治癒するブレオマイシン投与による一時的肺線維症マウスモデル、および慢性的に線維化が進行するシリカ微細粒子の吸引による慢性肺線維症マウスモデルを用いて解析しました。その結果、肺胞マクロファージは両者で数的な差異が見られなかったのに対し、骨髄由来の炎症性マクロファージは、一時的肺線維症マウスモデルでは一時的な増加にとどまる一方、慢性肺線維症マウスモデルでは持続的に増加することが明らかとなりました。この結果から、肺胞マクロファージではなく、骨髄由来マクロファージが慢性肺線維症病態に何らかの寄与をしているのではと予想されました。

② 骨髄由来の炎症性マクロファージの、シリカ微細粒子による肺線維症病巣のびまん化・拡大に対する抑制能の発見

次に本研究グループは、骨髄由来炎症性マクロファージの末梢臓器への供給に必須な CCR2（注6）分子が、骨髄由来細胞においてのみ作られないマウスを作成しました。このマウスにシリカ微細粒子を吸引させたところ、通常の球形の結節構造をとる病巣とは異なり、不定形で蜂の巣様のびまん性線維化病巣が形成されることが分かりました（添付資料9・下図）。さらに、線維化により破壊されている肺の領域も拡大していることが分かりました。この結果より、一時的肺線維症マウスモデルにおいて従来考えられていた、マクロファージは肺線維化病態の悪化を促進するという働きとは逆に、骨髄由来マクロファージは慢性期においてはむしろ病態の悪化を抑制する働きを持っているということが初めて示されました。

③ 骨髄由来の炎症性マクロファージは、シリカ微細粒子による線維化肺の肺組織細胞の病的な活性化を抑制していることを解明

細胞をとりまくことで、臓器の骨格や創傷部位における足場といった機能をもつ細胞外基質の過剰産生や、細胞の異常増殖などに代表される、肺組織細胞の病的な活性化は、慢性肺線維

症を引き起こす主たる原因であると考えられています。そこで本研究グループは、骨髄由来の炎症性マクロファージが、シリカ微細粒子による慢性肺線維症において、マクロな病巣の形態のみならず肺組織細胞の病的な活性化もまた抑制しているのではと考えました。その仮説を検証するため、マイクロアレイ（注7）を用いた肺組織細胞の網羅的な遺伝子発現解析と、さらにそのデータと公共データベース上のヒト慢性肺線維症サンプルの網羅的遺伝子発現パターンとの比較を行いました。その結果、慢性肺線維症に特徴的な遺伝子発現変動パターンの多くが、骨髄由来の炎症性マクロファージが無いと顕著に増強されることが分かりました。これより、骨髄由来の炎症性マクロファージは、シリカ微細粒子による肺線維症において、その組織細胞の病的な活性化もまた広く抑制していることが初めて明らかとなりました(添付資料9・上図)。

<今後の展望・社会的意義>

本研究により、シリカ微細粒子による慢性肺線維症を、骨髄由来の炎症性マクロファージが抑制することが初めて明らかにされましたが、どのような分子がその抑制能を担っているのか等、より詳細なメカニズムは依然として明らかではありません。さらに、慢性肺線維症の病態は極めて多様で、シリカ微細粒子以外の原因による肺線維症、あるいは原因不明の慢性肺線維症においても、骨髄由来の炎症性マクロファージが同様に病態を抑制しているというのは、未だ仮説の域を出ません。微細粒子による慢性肺線維症は、中国を始めとして患者数が増加するなど、今後さらに社会的問題として拡大する可能性があります。本研究により明らかとなった抑制機構の分子レベルでの解明、他の肺線維症モデルでの解析などを行うことで、将来的に微細粒子による慢性肺線維症に対する新たな治療標的・戦略が生まれることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「The American Journal of Pathology」（10月8日オンライン版）

論文タイトル：Reduced Supply of Monocyte-derived Macrophages Leads to a Transition from Nodular to Diffuse Lesions and Tissue Cell Activation in Silica-induced Pulmonary Fibrosis in Mice

著者：Shigeyuki Shichino, Jun Abe, Satoshi Ueha, Mikiya Otsuji, Tatsuya Tsukui, Mizuha Kosugi-Kanaya, Francis HW Shand, Shin-ichi Hashimoto, Hiroshi I. Suzuki, Teppei Morikawa, Yutaka Inagaki, and Kouji Matsushima*

*：Corresponding author

DOI 番号：10.1016/j.ajpath.2015.07.013

アブストラクト URL：http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.07.013

6. 問い合わせ先：

松島 綱治（マツシマ コウジ）

東京大学大学院医学系研究科 分子予防医学分野 教授

電話：03-5841-3431 FAX：03-5841-3393

e-mail：koujim@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 線維化病巣のびまん化

慢性肺線維症の線維化病巣は、病変部位と正常部位との境界が明瞭な結節性と、不明瞭なびまん性など、様々な病理組織像を取ることが知られている。結節性の線維化病巣は、一般に球形をしており同心円状に病巣が拡大する。びまん性の線維化病巣は、一般に蜂の巣様の構造を取り、不規則に病巣が拡大するため肺がより広範囲にわたって破壊される傾向にある。通常結節を誘引する物質であっても、吸入状況の違いなどにより、びまん性の病巣を誘引することがある。

(注2) 骨髄由来炎症性マクロファージ

マクロファージは生体防御に関わる免疫細胞の一種。細胞外にある病原体などの異物や死細胞など、生体にとって害のある物体を細胞内に取り込み、分解、輸送、不活化するといった役割を持つ。また創傷部位において不要となった、傷をふさぐ一時的な足場となる細胞外基質を分解するなど、創傷治癒においても重要な役割を果たしている。

マクロファージは体の様々な臓器に分布しているが、主に平素から一定数存在する組織常在型マクロファージ、および傷害が生じたときに骨髄から血流を介して供給されるマクロファージがあることが知られている。後者のマクロファージのことを、傷害組織における由来を区別するため、骨髄由来炎症性マクロファージと呼ぶ。異物の貪食など共通する部分もあるが、組織常在型と骨髄由来マクロファージは様々な異なる役割を有していることが知られている。

(注3) PM2.5

大気中の粒子のうち、粒径が $2.5\mu\text{m}$ 以下の微細粒子を指す。長期にわたり空中を浮遊し、広範囲に国境を越えて拡大するため、大気汚染の一端を担っている。

(注4) プレオマイシン

抗がん剤として実際に臨床でも用いられている薬であり、臨床でも肺線維症の副作用が生じることが知られている。プレオマイシンをマウスの気道内に投与すると、上皮細胞の細胞死を誘導して肺線維症が一時的に引き起こされる。この実験系は一時的肺線維症のモデルとしてよく用いられている。

(注5) 肺胞マクロファージ

肺の肺胞腔内に存在する、組織常在型マクロファージ。肺に吸い込まれた異物に対する最初の防御の一端を担うほか、肺胞腔内の分泌物の除去など、肺機能の維持にも重要な役割を担っている。

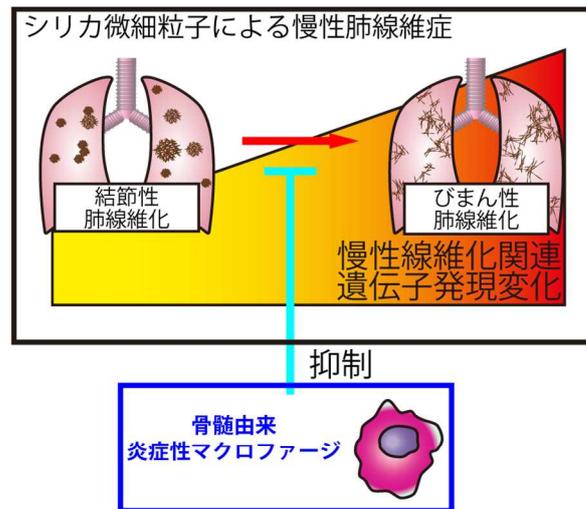
(注6) CCR2

生体内における免疫細胞の移動に関わる、ケモカイン受容体の一つ。この分子を遺伝的に欠損させると、骨髄由来炎症性マクロファージが末梢臓器に全く供給されなくなることが知られている。

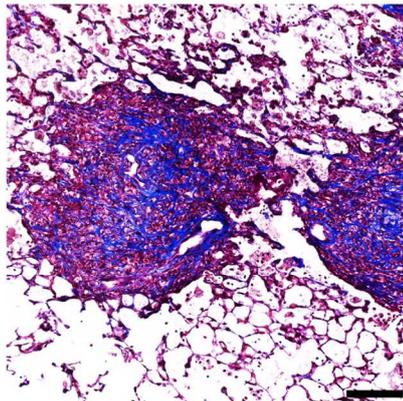
(注7) マイクロアレイ

非常に高密度な集積技術を用いて作成される、大規模な網羅的解析プラットフォームの一つ。遺伝子発現解析の場合は、数万に及ぶスポット上で遺伝子発現を同時解析可能なため、遺伝子発現の変化の全体像を、偏り無く俯瞰することが出来る。

8. 添付資料：



野生型マウス



骨髄由来炎症性マクロファージ
欠損マウス

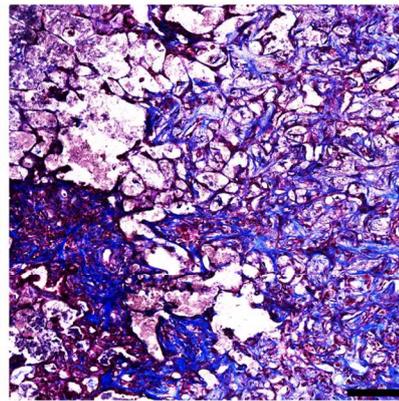


図 シリカ微細粒子による慢性肺障害を抑える新しい細胞メカニズム

上：骨髄由来炎症性マクロファージは、シリカ微細粒子誘導性の肺線維症に対し、病巣のびまん化、肺組織細胞での線維化関連遺伝子発現変化の増強に対し、抑制的な役割を有している。

下：シリカ微細粒子により肺線維症を引き起こしたマウスの病理組織像。野生型では円形の結節が形成され、青色に染色される膠原繊維も主に中心部に蓄積するのにに対し、骨髄由来炎症性マクロファージが欠損したマウスでは、結節構造が崩れた、びまん性の線維化病変を呈する。