

特集

肺線維化の細胞分子機序

阪本 考司*

内容紹介

間質性肺疾患(interstitial lung disease: ILD)は様々な原因により肺の間質に炎症と線維化が起こる疾患群の総称である。原因や経過は多様であるが、予後不良・治療抵抗例に共通する病態が肺の線維化である。肺線維化の分子機序に直接アプローチする治療が登場したことにより、線維化を伴う間質性肺炎に対して初めて有効性のエビデンスを伴う薬物治療が登場した。しかし現在上市される抗線維化薬は効果と副作用の点でいずれも十分満足とは言えず、優れた治療薬の登場が期待される。高齢化や診断の向上により増加する肺線維症に対し、世界的に近年精力的な研究がなされ、その知見に基づいた創薬の機運も高まっている。本稿では、肺線維化を形成する細胞群および分子機序について最近のトピックを含め解説するとともに、関連する新規治療薬候補についても紹介する。

はじめに

線維化とは慢性炎症などにより組織の傷害に続発する異常な組織修復反応である。線維化組織では、線維芽細胞が産生するコラーゲンやフィブロネクチンといった細胞外マトリクス(ECM)が異常に集積し、正常な組織構造が破壊され、臓器機能の進行性低下から臓器不全に陥る。肝臓

や腎臓、皮膚、心臓など種々の臓器がそれぞれの臓器特異的な原因による持続性細胞傷害に続発して臓器線維化から臓器不全に至る。一方で、肺線維症の病態理解と克服に関しては、大気・外界との接触・曝露に常に晒される肺の臓器特性と病理像の十分な理解が必要と考えられる。

代表的な線維性肺疾患である特発性肺線維症の病理学的な特徴は、UIP (usual interstitial pneumonia)と称され、空間的に多様性のある所見である¹⁾。肺小葉の辺縁を主体に線維芽細胞の増生とECMの異常沈着を伴う線維化が正常の肺胞構造を破壊するように分布する一方、正常に保たれた部分との境界には線維芽細胞巣(fibroblastic foci)という幼弱な線維芽細胞が集まった病巣が点在し、線維化過程の最前線と想定されている。線維芽細胞巣に隣接し表面を覆うように異常な立方上皮細胞が存在し、上皮—線維芽細胞のクロストークが病態形成に関与していると想定される。UIPに特徴的な蜂巢肺は高度な線維化病変の中にみられる嚢胞性の変化で、再生気管支上皮が内腔を覆っている。肺胞壁や末梢気道の肺胞上皮が化生細気管支上皮に置き換わる変化も見られる。線維化部位に軽度の炎症細胞の浸潤が見られることも多い。

このような病的組織像はいかなる機序で形成されるのか。遺伝子組み換えマウスモデルによるlineage tracing (細胞追跡技術)やマイクロ流路技術を活用した単細胞RNA発現解析などの最新の技術を用いて明らかにされた肺線維化の病態理解について、次項で紹介する。

— Key words —

肺胞上皮, 気道上皮, 線維芽細胞, マクロファージ, TGF- β

* Koji Sakamoto : 名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学
病院助教

I. 肺線維化の病態モデル

IPF (idiopathic pulmonary fibrosis) をはじめとする肺線維症の病態として、以下のようなモデルが現在受け入れられている²⁾。①繰り返す誘因への曝露や免疫学的な異常、遺伝子異常などにより肺胞傷害(上皮傷害を主とする)が繰り返され、②上皮下ではマクロファージをはじめとした免疫系の活性化など病的微小環境が異常な創傷治癒機転を誘導し、③線維芽細胞の増殖・活性化と ECM の産生により線維化が誘導される。

病的微小環境の中で線維芽細胞は α -SMA 陽性で収縮性の筋線維芽細胞に分化することで組織の硬度を上げ、線維化組織 ECM の改築を促す。組織硬化はさらに筋線維芽細胞への分化を促す正のフィードバックループを形成して組織構造破壊を伴った不可逆な線維化へ陥る。肺に存在する細胞種は 50 以上にも上ると報告されるが、この中から肺線維症に寄与する代表的な細胞群として上皮細胞・線維芽細胞・マクロファージを取り上げ、それぞれに関連する分子機序と治療薬候補について解説する。

肺線維症の形成には遺伝的背景や老化、喫煙や粉じんへの曝露による繰り返す上皮傷害が間質マクロファージなどを誘導、DAMPs (damage-associated molecular patterns) や炎症性メディエータが局所の病的な微小環境を形成する。創傷治癒のために増殖する線維芽細胞が病的環境の持続により細胞外マトリクスを異常産生し、アポトーシス抵抗性で組織の硬度を増す筋線維芽細胞へと分化することにより、feed-forward loop を形成し線維化が進行する。図 1 肺線維症に関与する代表的なメディエータや分子機序を開発中の治療標的と合わせて例示した。また、単細胞解析の革新による新たに見つかった肺線維症に特徴的な細胞群として、異常基底細胞、SatM、Meflin 陽性線維芽細胞などがあげられる。今後これらの細胞を標的とした病態解明および治療開発の発展が期待される。

II. 肺線維症における上皮細胞の役割

肺線維症の発症危険因子として、喫煙や職業粉塵¹⁾、PM2.5 への曝露³⁾が知られており、上皮細胞傷害を惹起することが病因と想定されてきた。家族性肺線維症家系の遺伝子解析や IPF の GWAS 解析(全ゲノム上の遺伝子多型解析)から肺線維症発症リスクの遺伝子多型の多くが上皮細胞の機能に密接に関係する遺伝子領域(MUC1, DSP, SP-C 等)に存在することも病態形成への上皮の重要性を示唆する。

IPF の肺胞 2 型上皮細胞に認められる特徴的な変化として、アポトーシスの増加、細胞老化および異常分化、自己再性能の低下が挙げられる。背景の分子機序として、テロメア長の短縮、小胞体ストレス、ミトコンドリア代謝異常などが見つかると、治療標的への開発が模索されている。中でも細胞老化は治療の直接標的としても注目される⁴⁾。

細胞老化とは老化した個体・臓器に見られる細胞の変化で、繰り返すストレスや DNA 損傷を受けた細胞が増殖を停止し、がん化を抑制するなど生理的な意義も知られる一方、SASP (senescent associated secretory phenotype) という一連の炎症性メディエータを放出、病的微小環境を形成し周囲の細胞にも細胞老化を誘導する。肺線維症に見られるテロメア長短縮や小胞体ストレスも肺胞上皮細胞に細胞老化を誘導する。マウス肺線維症モデルの研究では、p16INK4A 陽性の老化細胞を除去することにより肺線維化が軽減されることが示された⁵⁾。これらの結果に基づき、老化細胞を特異的に除去する老化細胞除去薬 (senolytic) の治療効果を検討する臨床治験が開始されている⁶⁾。

また近年のトピックスとして単細胞 RNA 発現解析の普及により IPF に特異的な新たな肺細胞群の発見が挙げられる。多数の臨床検体を用いたシングルセル RNA シークエンス解析では、IPF に特徴的な細胞群が複数見つかった⁷⁾。中でも aberrant basaloid cell (異常基底様細胞) は、COPD および正常肺には見られない特異な細胞

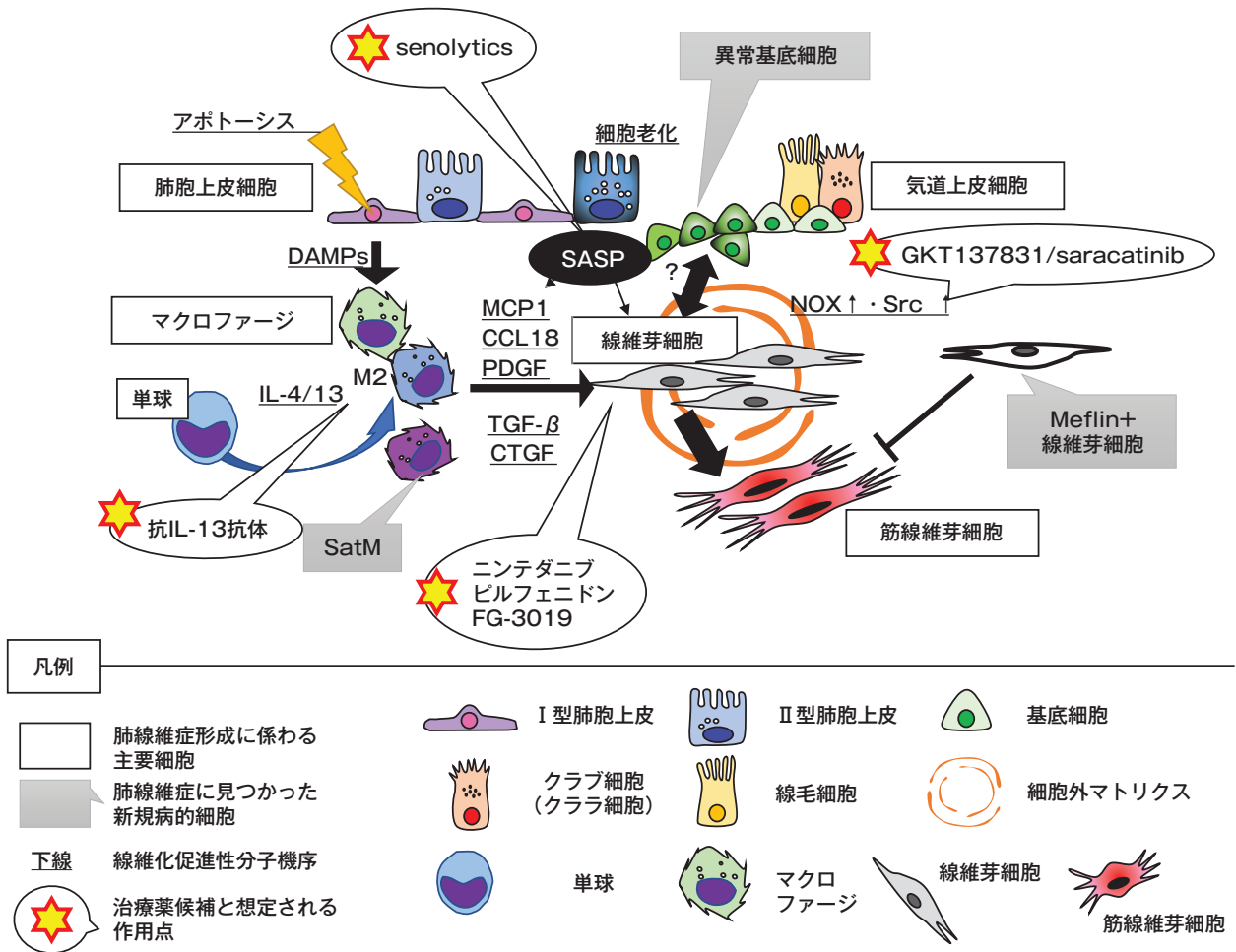


図1 肺線維症の形成に係わる主な細胞群と分子機序

肺線維症の形成には遺伝的背景や老化、喫煙や粉じんへの曝露による繰り返す上皮傷害が間質マクロファージなどを誘導、DAMPsや炎症性メディエーターが局所的な病的な微小環境を形成する。創傷治癒のために増殖する線維芽細胞が病的環境の持続により細胞外マトリクスを異常産生し、アポトーシス抵抗性で組織の硬度を増す筋線維芽細胞へと分化することにより、feed-forward loopを形成し線維化が進行する。ここでは肺線維症に関与する代表的なメディエーターや分子機序を開発中の治療標的と合わせて例示した。また、単細胞解析の革新による新たに見つかった肺線維症に特徴的な細胞群として、異常基底細胞、SatM、Meflin陽性線維芽細胞などがあげられる。今後これらの細胞を標的とした病態解明および治療開発の発展が期待される。

SASP：senescence associated secretory phenotype (細胞老化関連分泌形質)

SatM：Segregated-nucleus-containing atypical monocytes

DAMPs：damage-associated molecular patterns (ダメージ関連分子パターン)

集団であり、肺線維化に関連するECM改築因子MMP7、TGF-βの活性化に重要な $\alpha V \beta 6$ インテグリンなどを発現、細胞老化の特徴も有する。この細胞は、線維化の最前線である線維芽細胞巢を取り囲むようにIPF肺に分布しており、病態形成に重要な働きを演じている可能性が注目されている。今後この細胞群の更なる機能解明と新規標的治療開発も期待される。

Ⅲ. 肺線維症における線維芽細胞の役割

前述の通り、線維芽細胞は肺線維症の病態形成に中心的な役割を果たす。肺線維症における線維芽細胞の特徴として、 α -SMA陽性の筋線維芽細胞への分化、ECMおよびその改築因子の異常産生、アポトーシス抵抗性が挙げられるが、これら病的表現型の誘導因子として上皮細胞やマ

クロファージから分泌される TGF- β , PDGF, CTGF など液性因子, インテグリン $\alpha v \beta 6$, およびレドックスバランス異常などが報告された。抗線維化薬ニンテダニブは PDGF・VEGF・FGF 受容体型チロシンキナーゼの阻害薬であり, TGF- β 刺激による線維芽細胞からの ECM 産生を抑制する。ピルフェニドンはその正確な分子作用機序が不明だが, TGF- β 刺激による線維芽細胞の ECM 産生や増殖抑制, 活性酸素種の抑制が知られており, いずれも線維芽細胞が主たる治療標的である。同様に線維芽細胞に係わる分子経路の遮断を治療標的に想定した複数の臨床試験が行われている。

Src ファミリーキナーゼは, 細胞増殖や遊走, 分化などに関わるシグナル伝達に重要なチロシンキナーゼである。TGF β など成長因子の受容体チロシンキナーゼにより SFK が活性化されると下流の PI3K・MAP キナーゼ・STAT 経路などをリン酸化し活性化する。線維化に関連する TGF- β や PDGF などによる線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化や上皮細胞の上皮間葉転換を媒介する。肺線維症でも Src 経路が活性化しており, 動物モデルでも Src 阻害は優れた治療標的⁸⁾であることから現在 saracatinib の IPF に対する治験が進行中である。

CTGF は CCN2 とも呼ばれる ECM 蛋白である。マウス線維芽細胞から分泌され, 線維芽細胞の増殖や遊走を誘導する因子として発見された。TGF- β 下流の主要なメディエータとして知られており, 肺線維症で増加している。マウス肺線維症モデルにおいて CTGF 阻害の治療効果が示され⁹⁾, 現在 CTGF に対するモノクローナル抗体である FG-3019 の治験¹⁰⁾が進行中である。

細胞老化は肺線維症の上皮だけでなく線維芽細胞においても認められる変化であり, 筋線維芽細胞への分化や線維化促進性の SASP の分泌などを介して病態形成に関わる。老化細胞ではレドックスバランスの異常が認められるが, ROS 産生酵素 NOX の機能異常が治療標的として注目される。老化関連肺線維症の線維芽細胞に異常発現する NOX4¹¹⁾を標的にした特異的阻害薬によ

る臨床試験が進行中である。

またシングルセル RNA 解析により線維芽細胞においても多様性の理解が進んだ。我々は前述の IPF 肺の大規模シングルセル RNA シークエンス解析から IPF の線維芽細胞巢に集簇するメフリン陽性の幼弱な線維芽細胞が肺線維症の進行を抑制する機能を見出した¹²⁾。メフリンの詳細な機能は不明である¹³⁾が, これを利用した新たな線維化抑制治療開発が期待される。

IV. 肺線維症におけるマクロファージの役割

組織学的には炎症所見が乏しい IPF においても単球・マクロファージを主体に免疫系細胞群の病態形成への寄与が報告されてきた。IPF 肺においてはマクロファージ由来のケモカイン MCP-1・CCL18 の上昇が予後不良と関連, また肺胞洗浄液には活性化したマクロファージが, 血中では単球が増加¹⁴⁾している。肺には胎生期由来で肺局所において自己複製する肺胞マクロファージと血液中の単球由来で炎症や肺傷害に反応して動員される間質マクロファージの2つのマクロファージが存在する。後者が肺線維化に中心的な役割を演じているとされる¹⁵⁾。一方, マクロファージは組織環境に反応して M1 と M2 の2つの異なった表現型に分化すると考えられている。前者は IFN- γ ・IL-1・IL-6・TNF- α といった炎症性因子を分泌し炎症を惹起する一方, 後者は IL-4, IL-13 に誘導され線維化誘導に寄与する IL-10 や TGF- β を発現するとされる。IL-13 を標的とした治療開発も行われた¹⁶⁾。最近の検討では肺線維化に係わる単球・マクロファージの集団は M1/M2 という単純な二極分化よりもより多様であることが分かってきた。マウス線維症肺に出現する単球系細胞の解析より見出された CEACAM陽性の SatM (Segregated-nucleus-containing atypical Monocytes)細胞は, 顆粒球の特徴を持ち合わせた単球系細胞で, 組織に強力な線維化を誘導すること¹⁷⁾が示された。マウス線維症肺シングルセル RNA 解析では, 肺胞マクロファージと間質マクロファージの中間の性質を持つマクロファージが線維化病巣に集積し PDGF 分泌を介

して線維化誘導すること¹⁸⁾、同様の細胞がヒト IPF にも増加していること¹⁹⁾が報告されていてこの細胞群を標的にした薬物探索も報告²⁰⁾された。

マクロファージの携わる自然免疫についても複数の分子機序を通じて線維化への関りが指摘されている。持続性の傷害を受ける上皮などから DAMPs (damage-associated molecular pattern) と呼ばれる物質が放出されるとマクロファージがパターン認識受容体を介して免疫反応を惹起させる。cGAS-STING 経路は細胞内に侵入した外来性 DNA を検知し免疫反応を惹起する経路として見出されたが、ミトコンドリア代謝異常により細胞質に放出された自己のミトコンドリア DNA(mtDNA) を感知して免疫反応を惹起することが分かった。IPF では傷害された上皮や活性化された線維芽細胞から放出される mtDNA が肺線維症の予後不良²¹⁾と相関することが報告された。肺内遊離 DNA が STING 経路を介して肺炎症や線維化に寄与する²²⁾という報告もあり、将来的な治療標的に開発として注目される。

おわりに

米国の試算では全死亡の 45% が臓器線維症に関連するとも言われており、線維化の分子機構の研究と治療標的開発はますます活発になっている。本稿では最近のトピックスからその一部を取り上げて概説した。ここでは取り上げられなかった新規病態機序や治療標的も複数あり、肺線維症を対象にした臨床試験も増加の一途を辿っている。今後一層の進展が期待される病態解明の加速と、患者の予後や QoL の改善に寄与する新たな治療法の開発が大いに期待される。

利益相反

本論文に関して、筆者に開示すべき利益相反はない。

文献

- 1) Raghu G, et al : Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults : an official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med* 2022 ; 205(9) : e18-e47.
- 2) Wijsenbeek M, et al : Spectrum of fibrotic lung diseases. *N Engl J Med* 2020 ; 383(10) : 958-968.
- 3) Cui F, et al : Air pollutants, genetic susceptibility and risk of incident idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2023 ; 61(2) : 2200777.
- 4) Moss BJ, et al : Pathogenic mechanisms underlying idiopathic pulmonary fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2022 ; 17 : 515-546.
- 5) Schafer MJ, et al : Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease. *Nat. Commun.* 2017 ; 8 : 14532.
- 6) Nambiar A, et al : Senolytics dasatinib and quercetin in idiopathic pulmonary fibrosis : results of a phase I, single-blind, single-center, randomized, placebo-controlled pilot trial on feasibility and tolerability. *EBioMedicine* 2023 ; 90 : 104481.
- 7) Adams TS, et al : Single-cell RNA-seq reveals ectopic and aberrant lung-resident cell populations in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sci Adv* 2020 ; 6(28) : eaba1983.
- 8) Ahangari F, et al : Saracatinib, a selective src kinase inhibitor, blocks fibrotic responses in preclinical models of pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2022 ; 206(12) : 1463-1479.
- 9) Bonniaud P, et al : Connective tissue growth factor is crucial to inducing a profibrotic environment in "fibrosis-resistant" balb/c mouse lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004 ; 31(5) : 510-516.
- 10) Richeldi L, et al : Pamrevlumab, an anti-connective tissue growth factor therapy, for idiopathic pulmonary fibrosis (PRAISE) : a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Respir. Med.* 2020 ; 8(1) : 25-33.
- 11) Hecker L, et al : Reversal of persistent fibrosis in aging by targeting Nox4-Nrf2 redox imbalance. *Sci Transl Med.* 2014 ; 6(231) : 231ra47.
- 12) Nakahara Y, et al : Fibroblasts positive for meflin have anti-fibrotic properties in pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2021 ; 58(6) : 2003397.
- 13) Suzuki A, et al : BMP3b is a novel antifibrotic molecule regulated by meflin in lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2022 ; 67(4) : 446-458.
- 14) Kreuter M, et al : Monocyte count as a prognostic biomarker in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2021 ; 204(1) : 74-81.
- 15) Misharin AV, et al : Monocyte-derived alveolar macrophages drive lung fibrosis and persist in the lung over the life span. *J Exp Med* 2017 ; 214(8) : 2387-2404.
- 16) Maher TM, et al : Phase 2 trial to assess lebrikizumab in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2021 ; 57(2) : 1902442.
- 17) Satoh T, et al : Identification of an atypical monocyte

1) Raghu G, et al : Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults :

- and committed progenitor involved in fibrosis. *Nature* 2017 ; 541(7635) : 96-101.
- 18) Aran D, et al : Reference-based analysis of lung single-cell sequencing reveals a transitional profibrotic macrophage. *Nat Immunol* 2019 ; 20(2) : 163-172.
- 19) Morse C, et al : Proliferating SPP1/MERTK-expressing macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2019 ; 54(2) : 1802441.
- 20) Ayaub EA, et al : Single cell RNA-seq and mass cytometry reveals a novel and a targetable population of macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *bioRxiv*. 2021 ; 2021.01.04.425268.
- 21) Ryu C, et al : Extracellular mitochondrial DNA Is generated by fibroblasts and predicts death in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017 ; 196(12) : 1571-1581.
- 22) Benmerzoug S, et al : STING-dependent sensing of self-DNA drives silica-induced lung inflammation. *Nat Commun* 2018 ; 9(1) : 5226.