

## 特集

# 肺線維化におけるメカニカルストレスの役割

伊藤 理\*

## 内容紹介

呼吸器は、呼吸運動や咳反射、肺循環に伴って、伸展(ストレッチ)、圧縮、ずり応力などの機械的刺激(メカニカルストレス)を受けている。また、細胞が接着している基質の硬度や粘度などのメカニカル環境 (mechanical environment) の違いも、メカニカルストレスの一種である。これらのメカニカルストレスは、成長の過程においては肺の正常な分化や発達のために必須であり、また、呼吸器の恒常性と正常な生理機能を保つために不可欠である。一方で、負荷されるメカニカルストレスと呼吸器を構成する細胞や組織との間に、力の不均衡が生じることで、疾患の発症や病状の悪化を来すと考えられている。ほとんどの呼吸器疾患が何らかのメカニカルストレスの関与があると言っても過言ではない。特発性肺線維症 (idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) に代表される肺線維化を来す疾患においても、メカニカルストレスが病態形成に関与することが注目されている。

本稿では、メカニカルストレスの中でも特に、ストレッチと基質硬化に焦点を当て、肺の線維化との関連について概説する。また、肺癌の病態と基質硬化の関連についても言及する。

## はじめに

生体は、重力、浸透圧変化、ストレッチ、圧縮、ずり応力など、常に外部からメカニカルストレスを受けている。加えて、細胞運動などによって生体内部で発生する力(内力)も、メカニカルストレスとして作用する。あらゆる細胞は、これらメカニカルストレスを感知し、応答する機構を備えている<sup>1)</sup>。メカニカルストレスを感知するセンサー(メカノセンサー)として働く分子の一つに、機械感受性イオンチャネルがある<sup>2)</sup>。温度受容体(transient receptor potential vanilloid 1: TRPV1)<sup>3)</sup>と触覚受容体Piezo2<sup>4)</sup>が機械感受性イオンチャネルであることを発見した功績がたたえられ、David Julius博士とArdem Patapoutian博士に対し、2021年ノーベル生理学・医学賞が授与されたことは、記憶に新しい。

これら、TRPV1とPiezo2は、呼吸器における重要なメカノセンサーでもある。トウガラシの辛味主成分カプサイシン受容体としてクローニングされたTRPV1が、温度受容体であることが判明した<sup>3)</sup>。カプサイシンは、気道に分布するTRPV1を活性化して咳を誘発する。GronebergとNiimiらは、慢性咳患者および健常人に対して気管支鏡検査による気管支生検を行い、採取した検体におけるTRPV1発現を比較検討した。その結果、慢性咳患者では、健常人と比べTRPV1発現とカプサイシン吸入試験による咳感受性が有意に亢進していた<sup>5)</sup>。以上から、TRPV1が慢性咳における咳感受性亢進に深く関与していると考えられた。Piezo2に関しては、肺の過度の

—Key words—  
ATP, カルシウムイオン, 基質硬度, ストレッチ,  
メカニカルストレス

\* Satoru Ito: 愛知医科大学医学部 内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)教授

膨張を防ぎ、呼吸を調節する、「ヘーリング・ブロイウェル反射(Hering-Breuer reflex)」を制御する肺伸展受容器であることが、Patapoutian 研究室の Nonomura らにより解明された<sup>6)</sup>。

IPF などでみられる肺線維化には、免疫細胞、肺胞上皮細胞、肺線維芽細胞など多種の細胞と、炎症性メディエーターや成長因子などの液性因子に加え、メカニカルストレスが寄与する複雑な機序がある。病態制御の鍵となるメカノセンサーは特定されておらず、重要な研究課題となっている<sup>7~10)</sup>。以下、肺の線維化とメカニカルストレスに焦点を当て、最近の基礎及び臨床研究の知見を踏まえて解説する。

## I. ARDS 病態におけるストレッチ刺激の役割

急性呼吸促迫症候群(acute respiratory distress syndrome: ARDS)においては、肺での炎症が制御困難となり遷延すると、不可逆的な線維化につながる。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行時には、肺炎が悪化して ARDS に進展した患者が世界中で続出した。その結果、肺線維化の後遺症を合併することが大きな問題となった<sup>7~11)</sup>。ARDS における肺線維化には、メカニカルストレスが大きな役割を果たしている。ARDS や IPF 急性増悪など重症呼吸不全に陥った場合、人工呼吸器が装着されうる。人工呼吸器管理下では、人工呼吸器関連肺損傷(ventilator-induced lung injury: VILI)の併発がしばしば問題となる<sup>12)</sup>。VILI には、肺に対する繰り返しのストレッチや過伸展、気流によるすり応力など、メカニカルストレスが、直接肺に損傷を与える機序がある<sup>12, 13)</sup>。加えて、サイトカイン産生や炎症性メディエーター放出、炎症細胞活性化など細胞応答を介して病態を悪化させる biotrauma (バイオトラウマ)とよばれる機序も存在している<sup>12, 13)</sup>。通常の人工呼吸器療法では酸素化の維持が難しい場合に、膜型人工肺(extracorporeal membrane oxygenation: ECMO)が導入されることもある。ECMO 療法の目的には、肺への伸展刺激を減らす、すなわち「肺を休ませる」ことで、VILI の重症化

を防ぐことも含まれている。

筆者らは、VILI を模した研究として、細胞伸展装置を用いて、ヒト肺毛細血管内皮細胞にストレッチ刺激を与える実験を行った<sup>14~17)</sup>。繰り返しのストレッチ刺激により、肺毛細血管内皮細胞が、IL-6, IL-8, MCP-1 を産生することがわかった<sup>14, 15)</sup>。IL-6 は炎症と線維化に関与する多機能サイトカイン、IL-8 は好中球を活性化するケモカインである。肺毛細血管内皮細胞は、ストレッチ刺激に応答して、何らかの機械感受性イオンチャネルを介して細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇を生じ<sup>16)</sup>、ATP を放出する<sup>17)</sup>。細胞外 ATP は danger-associated molecular pattern (DAMP) として肺の炎症と線維化に関与することが注目されている<sup>18)</sup>。これらの知見も含め、肺へのストレッチ刺激は、毛細血管内皮細胞や肺胞上皮細胞に作用して炎症を惹起することで、biotrauma の一因となり、ARDS および肺線維化の病態悪化に関与すると考えられている<sup>12, 13, 15)</sup>。

## II. 肺線維症に対するストレッチの影響

肺線維化の病態機序の一つに、メカニカルストレス、特にストレッチと基質硬化が重要視されている<sup>7~11)</sup>。IPF には、肺の末梢側、特に下葉の胸膜下から病変が広がるという特徴がある。線維化が始まる部位は、吸気の際大きく伸展される場所でもあることから、ストレッチが IPF の疾患進行に関与すると推定されている<sup>19, 20)</sup>。

線維化を形成するためには、コラーゲンの産生源となる肺線維芽細胞の活性化が必要である。Froese らは、*TGF- $\beta$ 1* 遺伝子を強制発現させて作製したラット肺線維症モデルを用いた検討を行った。摘出肺の肺組織切片に対してストレッチ刺激を与えると、Smad リン酸化および活性化 *TGF- $\beta$ 1* の放出が誘導された<sup>21)</sup>。筆者らが行った実験では、ヒト肺線維芽細胞は、ストレッチ刺激に応答して、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇や細胞外への ATP 放出を引き起こした<sup>22, 23)</sup>。これらの知見から、肺に対するストレッチ刺激は、肺線維芽細胞を活性化し、炎症や線維化に関わる細胞応答を誘導すると考えられる。

### Ⅲ. 肺線維症は「肺が硬いから硬くなる」： 基質硬化の影響

肺線維症の肺は硬く膨らみにくい、すなわち肺コンプライアンスが低下しているため、呼吸機能検査では総肺気量や肺活量が減少する。この肺の硬化自体が、線維化進行と密接につながっている<sup>7-10, 20)</sup>。肺組織の構造を保った状態で、高張食塩水やDNA分解酵素などにより細胞成分のみを除去するacellularizationもしくはdecellularizationという実験手法がある。Boothらは、IPF患者から摘出した肺と摘出正常肺を用いて、decellular肺モデルを作成し、培養肺線維芽細胞を生着させる実験を行った。正常由来と比べIPF由来の肺モデルに接着した線維芽細胞において、筋線維芽細胞マーカー( $\alpha$ -smooth muscle actin:  $\alpha$ -SMA)発現の有意な増強が見られた<sup>8)</sup>。このことから、IPF肺の硬い基質が、肺線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化に寄与することが分かった。

IPF患者から採取した肺線維芽細胞を軟らかなゲルの上で培養すると、細胞活性が低下するという興味深い報告もある<sup>24)</sup>。Asanoらは、正常ヒト肺線維芽細胞を異なる硬さのゲルもしくはプラスチック皿上で培養し、基質硬度の細胞機能への影響を検討した<sup>25)</sup>。軟らかい2 kPaゲル上と比べ、硬い基質上(25 kPaゲルとプラスチック皿)ではストレスファイバー形成と $\alpha$ -SMA蛋白発現が増強した。加えて、硬い基質上(25 kPaゲルとプラスチック皿)で培養した線維芽細胞は、軟らかい2 kPaゲルで培養した細胞と比較して、遊走能が亢進していた<sup>25)</sup>。これらの知見から、IPFでは、基質硬化が肺線維芽細胞の活性化を介して更なる線維化の進行につながるfeed-forward loopが存在すると考えられている。

### Ⅳ. 肺線維症と基質硬化の肺癌への影響

最後に、肺線維化および基質硬化と肺癌との関連について触れる。肺線維症の存在は肺癌の発生母地となり、発症頻度の上昇につながることが知られている<sup>26)</sup>。癌細胞は、硬い基質に接

着することで増殖や上皮-間葉転換を促進する<sup>27)</sup>。Miyazawaらは、免疫チェックポイントに関わる分子programmed cell death-ligand 1 (PD-L1)を発現する肺癌細胞株を、異なる硬度のゲルとプラスチック皿上で培養する実験を行った。軟らかなゲル上と比べ、硬い基質上では、アクチン細胞骨格を介してPD-L1発現が増強することがわかった<sup>28)</sup>。基質硬化が、癌細胞のPD-L1発現増強を介して抗腫瘍免疫からの逃避につながることを示唆された。肺癌を含む固形癌においても、メカニカル環境としての硬い腫瘍間質が癌細胞の悪性度を高め、癌の進行を促進するfeed-forward loopの機序が存在すると考えられている<sup>26)</sup>。

### おわりに

肺線維化の進行に関わるメカニカルストレスの影響について、ストレッチ刺激と基質硬化に焦点を当て解説した。硬い基質と肺癌の進行に関しても言及した。肺線維化を制御するメカノセンサーの特定など、解明すべき課題は数多く残されており、今後の更なる研究が望まれる。

### 利益相反

本論文に関して、筆者が開示すべき利益相反はない。

### 文献

- 1) 曾我部正博：入門メカノバイオロジー：細胞力覚の世界． 曾我部正博編． メカノバイオロジー． 化学同人， 京都， 2015； 3-16.
- 2) Douguet D, et al : Mammalian mechanoelectrical transduction : structure and function of force-gated ion channels. Cell 2019 ; 179 : 340-354.
- 3) Caterina MJ, et al : The capsaicin receptor : a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature 1997 ; 389 : 816-824.
- 4) Coste B, et al : Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. Science 2010 ; 330 : 55-60.
- 5) Groneberg DA, et al : Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. Am J Respir Crit Care Med 2004 ; 170 : 1276-1280.
- 6) Nonomura K, et al : Piezo2 senses airway stretch and mediates lung inflation-induced apnoea. Nature 2017 ; 541 : 176-181.

- 7) Hinz B : Mechanical aspects of lung fibrosis : a spotlight on the myofibroblast. *Proc Am Thorac Soc* 2012 ; 9 : 137-147.
- 8) Booth AJ, et al : Acellular normal and fibrotic human lung matrices as a culture system for in vitro investigation. *Am J Respir Crit Care Med* 2012 ; 186 : 866-876.
- 9) Freeberg MAT, et al : Mechanical feed-forward loops contribute to idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 2021 ; 191 : 18-25.
- 10) Nho RS, et al : Biomechanical force and cellular stiffness in lung fibrosis. *Am J Pathol* 2022 ; 192 : 750-761.
- 11) Gorman EA, et al : Acute respiratory distress syndrome in adults : diagnosis, outcomes, long-term sequelae, and management. *Lancet* 2022 ; 400 : 1157-1170.
- 12) Slutsky AS, et al : Ventilator-induced lung injury. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 2126-2136.
- 13) Dos Santos CC, et al : The contribution of biophysical lung injury to the development of biotrauma. *Annu Rev Physiol* 2006 ; 68 : 585-618.
- 14) Iwaki M, et al : Mechanical stretch enhances IL-8 production in pulmonary microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009 ; 389 : 531-536.
- 15) Ito S, et al : Mechanical stretch and cytokine synthesis in pulmonary endothelial cells. In : Kamkin A, Kiseleva I, editor. "Mechanosensitivity in cells and tissues" No 5. Mechanical stretch and cytokines. New York, Springer, 2012 ; 165-187.
- 16) Ito S, et al : Actin cytoskeleton regulates stretch-activated  $Ca^{2+}$  influx in human pulmonary microvascular endothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010 ; 43 : 26-34.
- 17) Ito S, et al : Cellular ATP release in the lung and airway. *AIMS Biophys* 2016 ; 3 : 571-584.
- 18) Riteau N, et al : Extracellular ATP is a danger signal activating P2X7 receptor in lung inflammation and fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2010 ; 182 : 774-783.
- 19) 伊藤理. 呼吸器とがんのメカノバイオロジー : 気道, 肺, 肺胞. 曾我部正博編. メカノバイオロジー. 化学同人, 京都, 2015 ; 173-183.
- 20) Wang C, et al : Mechanical forces : The missing link between idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer. *Eur J Cell Biol* 2022 ; 101 : 151234.
- 21) Froese AR, et al : Stretch-induced activation of transforming growth factor-  $\beta$  1 in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2016 ; 194 : 84-96.
- 22) Murata N, et al :  $Ca^{2+}$  influx and ATP release mediated by mechanical stretch in human lung fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 ; 453 : 101-105.
- 23) Takahashi K, et al : Real-time imaging of mechanically and chemically induced ATP release in human lung fibroblasts. *Respir Physiol Neurobiol* 2017 ; 242 : 96-101.
- 24) Marinkovic A, et al : Matrices of physiologic stiffness potentially inactivate idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013 ; 48 : 422-430.
- 25) Asano S, et al : Matrix stiffness regulates migration of human lung fibroblasts. *Physiol Rep* 2017 ; 5 : e13281.
- 26) Ozawa Y, et al : Cumulative incidence of and predictive factors for lung cancer in IPF. *Respirology* 2009 ; 14 : 723-728.
- 27) Paszek MJ, et al : Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell* 2005 ; 8 : 241-254.
- 28) Miyazawa A, et al : Regulation of PD-L1 expression by matrix stiffness in lung cancer cells. *Biophys Biochem Res Commun* 2018 ; 495 : 2344-2349.