

## 論文要旨

線維症疾患治療薬開発に向けたインテグリンイメージング技術に関する基礎的検討

廣山 秀一

臓器線維症とは、様々な臓器において組織障害の修復過程で線維が過剰に蓄積し、臓器の硬化・機能不全を引き起こす病態である。代表的な臓器線維症として、非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) 由来の肝硬変や特発性肺線維症 (IPF) が知られているが、未だ病態を改善させる治療薬はない。integrin は $\alpha$ および $\beta$ サブユニットから構成されるヘテロ二量体蛋白質で、 $\alpha$ サブユニットは18種類、 $\beta$ サブユニットは8種類が知られている。これまでに、ヒトで報告されている $\alpha$ と $\beta$ サブユニットの組み合わせは24種類あり、なかでも、 $\alpha_v$ と二量体を形成する integrin  $\alpha_v\beta_3$  や  $\alpha_v\beta_6$  は、NASH 由来肝硬変や IPF における線維化に深く関与し、肝臓や肺組織において発現量が亢進することが報告されている。以上のことから、弊社では肝臓 integrin  $\alpha_v$  を標的とした肝硬変治療薬の創製プロジェクトが発足した。一般に有効性検証のひとつとして標的への作用確認があり、本プロジェクトにおいては肝臓の integrin  $\alpha_v$  蛋白質発現量の抑制であるが、非臨床から臨床にトランスレート可能な評価方法がないという課題があった。そこで、本研究では integrin  $\alpha_v$  に対する選択性が高く、ヒトでの安全性が確認されている integrin 結合 PET プローブ [ $^{18}\text{F}$ ]F-FPP-RGD<sub>2</sub> を用いて、動物モデルの integrin 蛋白質発現量を非侵襲的に評価できるかを検証した。第一に、NASH 肝硬変モデルラットの病態形成時における検討を行った。第二に、NASH 肝硬変モデルラットの治療時における検討を行った。第三に、NASH 以外の線維症への展開を期待し、IPF モデルラットを用いて検討を行った。以下に得られた知見を要約する。

### 1. NASH 肝硬変モデルラットの病態形成時における肝臓インテグリンイメージング

ラットに choline-deficient, low-methionine high-fat diet (CDHFD) を 3-4、または 9-10 週間自由摂餌させることで、ヒトの NASH 肝硬変病態を模倣したモデルラットを作製した。生化学的検査および肝臓病理検査から、NASH 肝硬変モデルラットの線維症スコアおよび病態の重症度は CDHFD の摂餌期間に依存しており、3-4 週摂餌群に比して、9-10 週摂餌群でより重度であった。また、本病態モデルラットの肝臓 integrin  $\alpha_v$  および  $\beta_3$  蛋白質発現量は、健常ラットに比して高値であった。 [ $^{18}\text{F}$ ]F-FPP-RGD<sub>2</sub> の肝臓への集積を半定量的指標である標準化取り込み値 (Standardized uptake value; SUV) で評価したところ、健常ラットに対して NASH 肝硬変モデルラットの 3-4 週摂餌群で増大傾向が、9-10 週摂餌群で有意な増大がみられた。 [ $^{18}\text{F}$ ]F-FPP-RGD<sub>2</sub> の肝臓への集積を定量的指標である総分布体積 (Total volume of distribution;  $V_T$ ) を用いて評価するために、定量解析法

の構築を試みた。その結果、肝臓を解析対象とした場合、本 PET プローブは two-tissue、three-compartment モデルでの解析が適していることを明らかにした。定量解析の結果、NASH 肝硬変モデルラットの  $V_T$  は、健常ラットに対して 3-4 週摂餌群で増大傾向が、9-10 週摂餌群で有意な増大がみられた。PET の半定量値 SUV および定量値  $V_T$  が、肝臓の integrin  $\alpha_v$  および  $\beta_3$  蛋白質発現量、また、肝臓の線維症スコアと良好な相関を示したことから、NASH 肝硬変モデルの病態形成時において非侵襲的に integrin 蛋白質発現量を評価できる可能性が示唆された。

## 2. NASH 肝硬変モデルラットの治療時における肝臓インテグリンイメージング

CDHFD 自由摂餌により作成した NASH 肝硬変モデルラットおよび健常ラットに対して、integrin  $\alpha_v$  に対する siRNA を 0 (媒体)、0.1 または 0.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与したところ、投与後 1 週間の肝臓 integrin  $\alpha_v$  蛋白質発現量は、媒体投与群に比して有意に低値を示した。 $[^{18}\text{F}]\text{F-FPP-RGD}_2$  の肝臓への集積を半定量的指標である SUV で評価したところ、本病態モデルラットおよび健常ラットの SUV は、siRNA 投与により有意に低下した。さらに、肝臓 integrin  $\alpha_v$  蛋白質発現量は、SUV と正の相関を示したことから、NASH 肝硬変モデルの治療時においても非侵襲的に integrin 蛋白質発現量を評価できる可能性が示唆された。

## 3. 他の臓器線維症への展開 —IPF モデルラットを用いた検討—

Bleomycin をラットの気管支内に単回投与することで、ヒトの IPF 病態を模倣したモデルを作製した。動脈血中の酸素分圧値 ( $\text{pO}_2$ ) および肺病理検査から、IPF モデルラットでは健常ラットに比して、 $\text{pO}_2$  の有意な低値および線維症スコアを初めとする病理スコアの有意な高値が認められた。また、本病態モデルラットの肺 integrin  $\alpha_v$  蛋白質発現量は、健常ラットに比して有意に高値であった。 $[^{18}\text{F}]\text{F-FPP-RGD}_2$  の肺への集積を定量的指標である  $V_T$  を用いて評価するために、Logan graphical analysis 法を用いて定量解析を実施したところ、IPF モデルラットの  $V_T$  は、健常ラットに比して有意に高値であった。PET 定量値  $V_T$  が、肺の線維症スコアを含む病理スコアおよび integrin  $\alpha_v$  蛋白質発現量と正の相関を、 $\text{pO}_2$  と負の相関を示したことから、肺線維症においても非侵襲的に integrin 蛋白質発現量、あるいは病態を評価できる可能性が示唆された。

本研究は、NASH 肝硬変モデルラットの病態形成時および治療時において、integrin 結合 PET プローブの肝臓集積と肝臓 integrin 蛋白質発現量が正の相関を示すことを明らかにした。また、本現象は IPF モデルラットを用いた検討でも確認されたことから、肺線維症へ応用できる可能性が示唆された。これらの知見は、本 PET プローブが、臓器線維症における integrin 蛋白質発現量を非侵襲的に評価できる可能性を示す重要な情報である。