

慢性閉塞性肺疾患に関わる非喫煙要因に着目した基礎・臨床研究 —酸化ストレス・性差・上皮型ナトリウムチャネルの過剰発現に着目して—

熊本大学大学院薬学教育部 創薬・生命薬科学専攻
HIGO プログラム専門コース 遺伝子機能応用学分野 藤川 春花

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は、慢性的な喀痰、咳嗽、労作時呼吸困難を主徴とする難治性の呼吸器疾患である。現在、世界の死亡原因第三位である COPD は、全世界の人々の健康を脅かす保健課題の 1 つであり、新たな疾患標的の提案や治療法の開発が望まれている。COPD の最大危険因子は喫煙であるが、全世界の COPD 患者のうち 10-20% は非喫煙者であること、さらには、個々の患者の背景 (併存疾患の有無、性差など) により症状の程度が異なることが知られている。すなわち、COPD の発症や進行には、環境や遺伝などの非喫煙要因も関与する。これまで、本研究室では、COPD に関わる非喫煙要因の探索を企図し、肺組織における上皮型ナトリウムチャネル (epithelial Na⁺ channel: ENaC) の過剰発現や酸化ストレスの亢進が COPD の発症や病態形成に重要な役割を担うことを明らかにしてきた。これらの背景を受け、本研究では、第 1 に、生理学的・病態生理学的観点や性差の観点から、非喫煙因子の一つである酸化ストレスと肺の機能・構造の関係性を明らかにすることを目的とし、内因性抗酸化物質である尿酸及び酸化ストレス-性差-COPD 肺病態の関係性に着目した基礎研究及び疫学解析を実施した。また、第 2 に、非喫煙因子の一つである ENaC の過剰発現が COPD 肺病態の形成に重要であることから、ENaC 阻害作用を有する化合物の同定を目的とし、多様な作用を有することで知られるマクロライド系抗菌薬に着目した基礎研究を実施した。

1. COPD における酸化ストレスと性差の関係に着目した基礎・臨床研究

研究 1-1 内因性抗酸化物質「尿酸」が COPD 肺病態に与える影響

尿酸は、ヒトの血中のみならず、肺粘膜中にも高濃度存在する内因性の抗酸化因子であるが、一方、周辺環境に応じて酸化促進的に作用することも報告されており、呼吸器における尿酸の存在意義は不明な点が多い。そこで、尿酸と呼吸器の関係性に着目し、本研究では、血中尿酸値が、生理学的 (加齢) または病態生理学的 (COPD) な呼吸機能低下に対して与える影響について、実験動物を用いた *in vivo* 試験及び疫学解析により検証した。まず、マウスにおける尿酸分解酵素を欠損または阻害し、血中尿酸値を上昇させたところ、COPD 雌モデルマウスにおいてのみ肺病態が改善することが明らかとなった。さらに、日本赤十字社熊本健康管理センターにおける人間ドック受診者情報を用いた疫学解析から、尿酸高値は、高齢女性における経年的呼吸機能低下を抑制することが明らかとなり、尿酸は COPD 女性患者や高齢女性の肺機能保護作用を有し、女性の生理的機能低下や病態を制御しうる因子であることを示唆した。

研究 1-2 COPD モデルマウスを用いた肺病態の性差と Keap1-Nrf2 signaling pathway を指標にした酸化ストレス応答に関する基礎的検討

1-1 の結果及び本研究室の過去の研究から、COPD 肺病態の性差に酸化ストレスが関与することが示唆された。酸化ストレスへの脆弱性が、女性の COPD 罹患率を高め、病態を増悪させる因子となる可能性が高いことから、本研究では、酸化ストレス-性差-COPD 肺病態の関係性を明らかにすることを目的とした。雌雄の COPD モデルマウス (C57BL/6J-βENaC-Tg マウス) および汎用的な COPD モデルマウス (Elastase 誘導性肺気腫モデル) の肺機能解析、並びに、酸化ストレス制御系である Keap1-Nrf2 pathway を指標とし酸化ストレス応答についての基礎的検討を行った。その結果、疫学研究と同様に COPD 雌マウスは、雄と比べ肺機能が低下していた。また、正常時の雌の肺組織では、抗酸化に関わる Nrf2 標的遺伝子発現量が雄と比較し低く、酸化ストレスに対する感受性が高い可能性を見出した。また、この性差には Keap1 タンパク質発現量の性差が影響することが示唆され、Keap1 発現量に女性ホルモンが関与することが示唆された。

2. マクロライド系抗菌薬の ENaC 阻害作用に関する *in vitro*・*in vivo* 研究

ENaC の過剰活性化は、Na⁺ 過剰吸収を介し粘液クリアランスを低下させる。COPD 患者において ENaC 発現増加または活性化が認められていることから、ENaC が COPD 病態の非喫煙因子の一つであることは知られているが、未だ有望な ENaC 阻害剤は臨床応用されていない。本検討では、マクロライド系抗菌薬が、COPD 患者に対する長期予防的少量投与により急性増悪頻度を有意に減少させ、COPD 急性増悪・安定期に対しても使用されているという報告に着眼し、ENaC 過剰発現モデル (*in vitro* および *in vivo*) を用いて、マクロライド系抗菌薬が ENaC 活性を制御するか否かを検討した。その結果、3 種類のマクロライド (エリスロマイシン、クラリスロマイシン、アジスロマイシン) が ENaC 過剰発現ヒト気管支上皮細胞 (β/γ-ENaC 過剰発現細胞) における ENaC 活性を用量依存的に抑制することがわかった。さらに、アジスロマイシンは、ENaC 過剰発現モデルマウス (C57BL/6J-βENaC-Tg) における肺気腫病態および呼吸機能低下に対して、改善する傾向を示した。

以上、本研究は、COPD に関わる非喫煙要因である酸化ストレス・性差・上皮型ナトリウムチャンネルの過剰発現に着目し、COPD 発症における尿酸や Nrf2 経路を介した酸化ストレス応答を性差の観点から明らかにするとともに、ENaC 阻害活性を有する化合物として、マクロライド系抗菌薬を新たに同定した。本研究は、細胞-マウス-ヒトをリンクしたトランスレーション研究であり、特に、本研究で得られた尿酸に関する知見は、これまで COPD 領域で議論されていた「尿酸 paradox」の理解に一石を投じる基礎的知見である。また、性差への着眼や ENaC 阻害剤に関する知見は、COPD 治療薬の開発や臨床試験の実施における患者選定に際し、有益な重要な情報を提供する。