

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の病態表現型に基づいた治療戦略の構築 ~新規 COPD モデルマウスの評価・代謝連関・肺がん合併症の観点から~

医療薬学専攻 医療薬科学コース 遺伝子機能応用学分野 中嶋 竜之介

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は炎症, 老化, 肺気腫, 呼吸機能低下を呈する難治性呼吸器疾患であり, 世界の死亡原因第 3 位である. 根治療法の開発及び合併症の発症を考慮した長期的な病態管理の達成が喫緊の課題である. これまで本研究室では, COPD 患者において発現上昇が認められる上皮型 Na^+ チャンネル (ENaC) に着目することで, 新規 COPD モデル ($\beta\text{ENaC-Tg}$) マウスの作製を行った. しかし, $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスと既存の COPD モデル (e.g. Elastase 誘導性モデル) マウスの類似点・相違点は明らかになっていない. そこで本研究では, まず $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウス肺病態の表現型における特徴 (気道病変及び気腫病変) を明らかにすることを試みた (研究 1). また, 本研究室では, 2 型糖尿病と COPD の合併症は肺組織におけるインスリン抵抗性を介して COPD 肺病態を増悪させることを見出してきたことから, インスリン抵抗性改善作用を有する既承認薬 Metformin が安全かつ有効な COPD 新規治療薬になると考えられる. そこで, 研究 1 において予後の悪い気道病変/気腫病変混合型 COPD を模擬できることを示した $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスに対する Metformin の病態改善効果を検討した (研究 2). さらに, 近年注目されている COPD 合併症において, 生命予後に最も直結すると考えられる COPD-肺がん合併症のモデルマウスの作製を行い, COPD と肺がんの病態間相互作用因子を同定することで, COPD 合併症に対する新たな治療戦略の開発を試みた (研究 3).

1. $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスと Elastase マウスの組織学的・生化学的な肺病態比較解析

本研究室で作製した新規 COPD モデル ($\beta\text{ENaC-Tg}$) マウスによる創薬研究をさらに加速させるためには, 既存のモデルマウスとの比較による表現型分類が重要である. そこで, 本研究では, 最も汎用されている COPD モデル (Elastase) マウスとの組織学的・生化学的な比較解析を行った. 本検討では, 組織学的解析に基づく肺気腫の評価を, 既存の評価指標である平均肺胞径の算出 (MLI: Mean Linear Intercepts) と, 肺組織切片全領域の画像解析に基づく新規肺気腫計測パラメーター (面積, 周囲長, (長径+短径)/2, フェレ径) の自動計測により行った. その結果, 上記パラメーターの妥当性を示すとともに, $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスは Elastase モデルマウスと比して, 肺組織全体にびまん性の肺気腫を呈することを示した. また, 肺組織サンプルを用いた生化学的解析の結果, COPD 病態形成に重要な炎症 (*Kc*, *Il-6*, *Lcn2*) 及び老化 (*p21*, *Sirt1*) 関連の遺伝子発現を検討したところ, Elastase モデルマウスは肺気腫病態形成期における一過性の遺伝子発現変化を示した一方で, $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスは肺気腫病態発症期において持続的な遺伝子発現変化を示した. これらの結果から, Elastase モデルマウスは一過性の気道病変優位状態から気腫病変優位状態へ推移するのに対し, $\beta\text{ENaC-Tg}$ マウスは気道病変と気腫病変混合

型の COPD 肺病態を呈することを明らかにした。

2. ENaC 過剰発現気道上皮細胞及び β ENaC-Tg マウスに対する Metformin の効果

これまで本研究室において COPD-代謝連関の重要性を明らかにしてきた。過去には Elastase マウスに対する Metformin の病態改善効果が示されているが、予後の悪い気道病変/気腫病変混合型 COPD モデルに対する効果は検証されていない。そこで、本研究では ENaC 過剰発現気道上皮細胞 (β/γ ENaC-16HBE) 及び β ENaC-Tg マウスの COPD 肺病態に対する Metformin の影響を検討した。興味深いことに、Metformin は AMPK の活性化を介して ENaC 活性を抑制することを示した。さらに、 β ENaC-Tg マウスへの Metformin 投与は、副作用なく、肺組織における AMPK を活性化し、肺気腫と呼吸機能 (FEV0.1/FVC) を改善させた。また、Metformin は BALF 中の好中球数、プロテアーゼ (MMP9, MMP12) の発現、免疫細胞の遊走に關与する複数のサイトカインを抑制した。以上の結果から、Metformin は ENaC 活性を抑制すること、複数のサイトカインやプロテアーゼを抑制することで β ENaC-Tg マウスの COPD 肺病態を抑制することを示唆した。

3. COPD-肺がん合併症モデルマウス作製と COPD-肺がん病態間相互作用の解明

COPD は合併疾患の発症頻度が高いことが報告されており、なかでも COPD-肺がん合併症は患者の生命予後に直結するため、病態間相互作用の解明と新たな治療アプローチが必要である。また、炎症とがんに関する研究は数多く行われているが、気腫病変が、がんに与える影響はほとんど解明されていない。そこで、本研究では COPD の中でも特に気腫病変から肺がんを発症する段階 (発症期) と肺気腫病態中で肺がんが進行する段階 (増悪期) の2つの視点から、種々の検討を行った。まず、発症期の病態モデルを作製するために、Elastase による肺気腫誘導後に、タバコ由来発がん性物質 (NNK) を投与した。その結果、NNK による発がん誘導 (A/J マウス) は、COPD 病態そのものには影響しなかったが、一方、肺腫瘍数を増加させる作用が認められ、このとき、 $\alpha 7nAChR$ -p-Akt 経路の活性化が關与していることが示唆された。次に、増悪期の病態モデル作製のため、Elastase による肺気腫誘導後に、マウス肺がん細胞株 (LLC) を同所移植した。その結果、LLC 移植群において、生存率の低下や、腫瘍内 CD8⁺ T 細胞、マクロファージ (Iba-1⁺)、細胞増殖マーカー (Ki67) の増加が認められた。さらに、LLC 移植群では、免疫チェックポイント分子 PD-L1 陽性のマクロファージが増加し、そのことにより、CD8⁺ T 細胞の活性が抑制され、生存率が低下することが示唆された。以上、本研究により COPD-肺がん合併症の各段階 (発症期・増悪期) の腫瘍微小環境の変化と腫瘍増殖機序の一端が明らかになった。

本研究は、Elastase 誘導性モデル及び ENaC-Tg マウスの病型分類を明らかにし、また、COPD 治療薬として Metformin の有用性を示した。さらに、異なる段階の COPD-肺がん合併症マウスの解析により、それぞれに特徴的な病態増悪機構を見出した。本研究は、COPD の表現型に基づいた治療戦略の構築に寄与する重要な基礎的知見を提供する。