

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	市 山 崇 史
論文審査担当者	主 査 花岡 正幸 副 査 山田 充彦 ・ 小泉 知展
<p>論文題目</p> <p>Effects of Subtype-selective E Prostanoid Receptor Agonists on Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Rats (ブレオマイシン誘発肺線維症ラットモデルに対するサブタイプ選択的 E プロスタノイド受容体アゴニストの効果)</p>	
<p>【はじめに】特発性肺線維症 (IPF) は治療選択肢が限られた予後不良の肺疾患である。近年、ピルフェニドンやニンテダニブという新規抗線維化薬が臨床で使用されているが、IPF 患者の予後を改善するためには新しい抗線維化薬の開発が期待される。IPF 患者の肺ではプロスタグランジン (PG) E2 が減少していることが報告されている。また、ブレオマイシン (BLM) 誘発肺線維症マウスモデルに対する PGE2 投与によるコラーゲン産生量の抑制と、死亡率の低下が報告されている。PGE2 の受容体として EP1~EP4 の4つが同定されているが、どの受容体が抗線維化作用に寄与しているかは明らかではない。PGE2 投与により cAMP レベルが上昇する。EP2 と EP4 は G 蛋白と結合し細胞内の cAMP レベルを上昇させることが知られている。我々は新規抗線維化薬の候補として EP2 アゴニストおよび EP4 アゴニストを開発し、BLM 誘発肺線維症ラットに対する薬理学的効果を調べた。また、ヒト IPF 患者の肺組織と BLM 誘発肺線維症ラットの肺組織で EP2 と EP4 の発現を免疫染色で調べた。【方法】肺線維症ラットモデルは 10 週齢の Wistar-Hann ラットに対し day0 に BLM 2.2mg/kg を気管内投与して作製し、以下の 6 群に分けて 21 日間介入を行った。①sham コントロール群；day0 に生理食塩水を気管内投与したのみ、②BLM+溶媒群；肺線維症ラットモデルに介入薬の溶媒 1mL/kg のみを 1 日 3 回皮下注射する、③BLM+EP2 アゴニスト群；肺線維症ラットモデルに EP2 アゴニスト 0.3mg/kg を 1 日 3 回皮下注射する、④BLM+EP4 アゴニスト群；肺線維症ラットモデルに EP4 アゴニスト 0.3mg/kg を 1 日 3 回皮下注射する、⑤BLM+ピルフェニドン群；肺線維症ラットモデルにピルフェニドン 30mg/kg を 1 日 3 回皮下注射する、⑥BLM+ニンテダニブ群；肺線維症ラットモデルにニンテダニブ 50mg/kg を 1 日 1 回経口投与する。Day22 に深麻酔下で大動脈離断により安楽死させ、肺を摘出し右肺重量を測定した。左肺はマッソン・トリクローム染色により病理組織学的に評価し、コラーゲンの主要成分であるヒドロキシプロリンの含有量を ELISA 法で、肺線維症関連マーカーである TGF-β1 とプロコラーゲンの mRNA 発現を定量 RT-PCR で評価した。病理解剖で得られた IPF 患者の肺組織、また本研究の BLM+溶媒群のラット肺組織で、EP2 と EP4 の免疫染色を施行し発現の有無を確認した。【結果】病理組織学的評価では溶媒投与群に比べ EP2 アゴニストとニンテダニブ投与群で線維化の軽減が示唆されたが、スコア評価、ヒドロキシプロリン含有量で有意な差はなかった。肺重量は、溶媒投与群に比べ EP2 アゴニストとニンテダニブ投与群で有意に軽減した。TGF-β1 の mRNA 発現は EP2 アゴニスト、EP4 アゴニスト、ピルフェニドンとニンテダニブ投与群で溶媒投与群と比べて有意に低下した。プロコラーゲン 1a1 の mRNA 発現は EP2 アゴニストとピルフェニドン投与群で溶媒投与群と比べて有意に低下し、プロコラーゲン 1a2 の mRNA 発現は EP2 アゴニスト、ピルフェニドンとニンテダニブ投与群で溶媒投与群に比べ有意に低下した。BLM 誘発肺線維症ラットモデルの肺組織と IPF 患者の剖検肺組織ではいずれも EP2 が強く発現しており、EP4 は発現していたが程度は弱かった。一方、sham コントロール群ラットの肺組織と肺癌手術検体から得られた正常肺組織では、EP2 と EP4 は発現していなかった。【考察】EP2 アゴニストが肺重量の増加を有意に抑制し、肺線維症関連マーカーである TGF-β1 およびプロコラーゲン遺伝子の mRNA 発現を有意に抑制し、線維化スコアおよびヒドロキシプロリン含有量を低下させる傾向を示した。これらの結果より EP2 アゴニストの投与により線維化が抑制されている可能性が示唆された。また、これらの結果はニンテダニブ投与群と類似していた。一方、EP4 アゴニストは線維化を抑制しなかった。EP2 アゴニストと EP4 アゴニストで薬効に差があった理由として以下の3つが考えられる。①EP2 の刺激による cAMP の発現量と EP4 の刺激による</p>	

cAMPの発現量には7倍の差があること, ②EP4にはcAMP非依存性のシグナル伝達経路があること, ③本研究において肺線維症組織の免疫染色でEP2の強い発現と比べてEP4の発現の程度が弱いこと. 【結論】EP2アゴニストが肺線維症に対する有望な治療薬になる可能性が示唆された. 別の動物モデルや臨床検体でのさらなる検討が望まれる.