



2021年8月2日

東京慈恵会医科大学

東京医科大学

気道上皮細胞から分泌されるエクソソームが肺線維化進展を抑制することを発見

～特発性肺線維症に対する吸入治療薬への臨床応用に期待～

東京慈恵会医科大学エクソソーム創薬研究講座の藤田雄講師，内科学講座呼吸器内科の桑野和善教授，荒屋潤教授と門田宰助教，外科学講座呼吸器外科の大塚崇教授，東京医科大学医学総合研究所の落谷孝広教授の研究グループは，気道上皮細胞から分泌されるエクソソームが肺線維化進展を抑制し，新規治療薬となりうることを示しました。

特発性肺線維症は，診断後平均生存期間が3-5年の難病で，有効な治療が十分に確立されていません。今回の研究成果は，特発性肺線維症をはじめとした肺の線維化をきたす疾患に対する新規治療薬開発に繋がるものと期待されます。

この研究成果は，国際細胞外小胞学会誌「Journal of Extracellular Vesicles」(IF=25.841, JCR2020)のオンライン版に掲載されます(日本時間 2021年8月2日21時30分公開)。

【概要】

- 細胞から分泌される小胞であるエクソソームのうち、気道上皮細胞由来のものを TGF- β と共に肺線維化細胞に添加すると、肺の線維化進展を抑制することを発見しました。
- 気道上皮細胞由来エクソソームが、線維化部の線維芽細胞では筋線維芽細胞分化を抑制し，肺上皮細胞では抗老化作用を示しました。
- 気道上皮細胞由来エクソソームに含まれる多彩な分子のうち，特に複数のマイクロ RNA が細胞老化に関係しているとされる TGF- β 及び Wnt シグナルを抑制することを明らかにしました。
- 気道上皮細胞由来エクソソームは，現在臨床で使用されている抗線維化薬のみならず，新規治療薬として注目されている間葉系幹細胞由来エクソソームよりも優れた抗線維化効果をもたらす可能性が示唆されました。

【本研究に関する問い合わせ先】

東京慈恵会医科大学 エクソソーム創薬研究講座 講師 藤田雄 yuugot@jikei.ac.jp

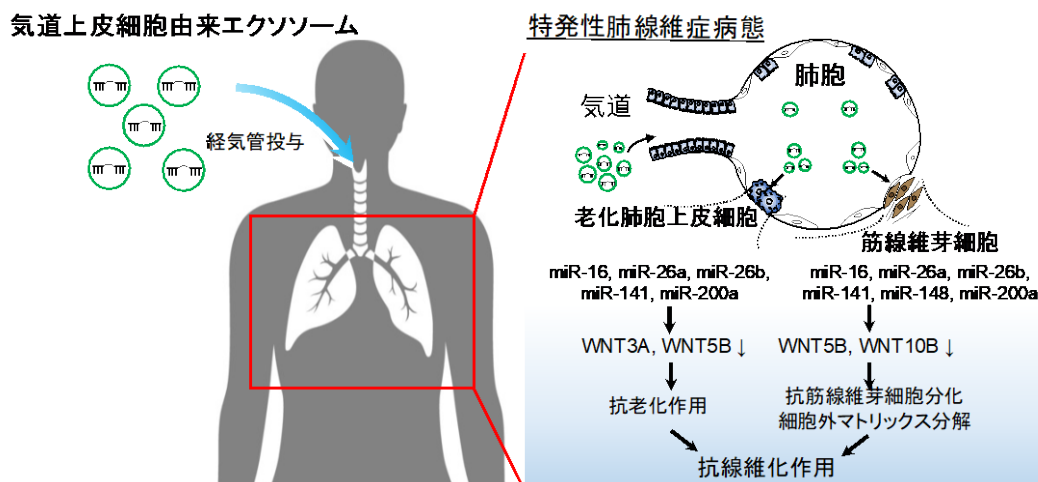
東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門 教授 落谷孝広 tochiya@tokyo-med.ac.jp

【報道機関からのお問い合わせ窓口】

学校法人慈恵大学 経営企画部 広報課 03-5400-1280 koho@jikei.ac.jp

学校法人東京医科大学 企画部 広報・社会連携推進課 03-3351-6141 d-koho@tokyo-med.ac.jp

研究の概念図



1. 背景

特発性肺線維症（IPF）は、慢性かつ進行性の経過をたどり、線維化進展による不可逆性の構造改変をきたす難病の呼吸器疾患です。診断後の平均生存期間が3－5年と短く、治療薬も抗線維化薬であるピルフェニドンとニンテダニブの2剤が臨床現場で使用されておりますが、より効果の高い新しい治療薬の開発が望まれています。

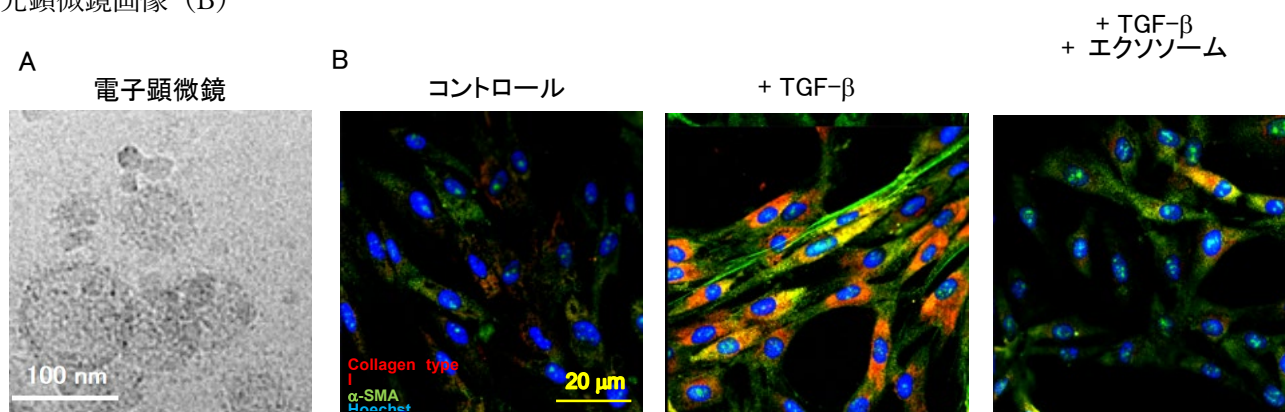
エクソソームは脂質二重膜に囲まれた100nm前後の小胞で、マイクロRNA^{注1}やタンパク質など多彩な分子を内包し、組織修復や再生、疾患の発症や進展など、多くの機能や病態に関与することが知られています。研究チームは、エクソソームが肺末梢まで届きうる大きさであり、体液中で安定して存在できるという特徴から、呼吸器疾患に対する吸入薬への臨床応用が期待できると考えました。そこで本研究では、肺の恒常性に関与する気道上皮細胞から分泌されるエクソソームに着目し、特発性肺線維症の新たな治療薬となる研究を目指しました。

2. 研究手法・成果

(i) 気道上皮細胞由来エクソソームによる筋線維化細胞分化抑制効果と抗老化効果を発見

ヒト手術肺検体から気道上皮細胞を培養し、超遠心法^{注2}でエクソソームを回収しました（図1A）。肺の線維化病態形成および進展において、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化と増殖が重要であることがわかっています。また、筋線維芽細胞分化には種々のサイトカインが関与し、とくに transforming growth factor(TGF)- β は中心的な役割を果たします。そこで、気道上皮細胞由来エクソソームの機能を評価するために、回収したエクソソームを TGF- β と共に肺線維化細胞に添加すると、筋線維芽細胞分化を抑制することを見出しました（図1B）。この筋線維化細胞分化抑制効果は、現在臨床で使用されているピルフェニドンとニンテダニブの2剤より優れていました。さらに、特発性肺線維症肺組織では活動性の線維化進展部位での肺胞上皮細胞で細胞老化が誘導され、病態形成に関与することがわかっています。気道上皮細胞由来エクソソームを TGF- β と共に添加すると、TGF- β で誘導される細胞老化も抑制しました。

図1. 気道上皮細胞由来エクソソームの電子顕微鏡画像 (A) と肺線維芽細胞への添加後の変化を示す蛍光顕微鏡画像 (B)



- 気道上皮細胞由来エクソソームを TGF-β と共に線維芽細胞へ添加すると、筋線維化細胞分化のマーカである collagen type I や α-SMA の TGF-β による発現を抑制した。

(ii) 気道上皮由来エクソソーム内マイクロ RNA が TGF-β, Wnt シグナルを抑制

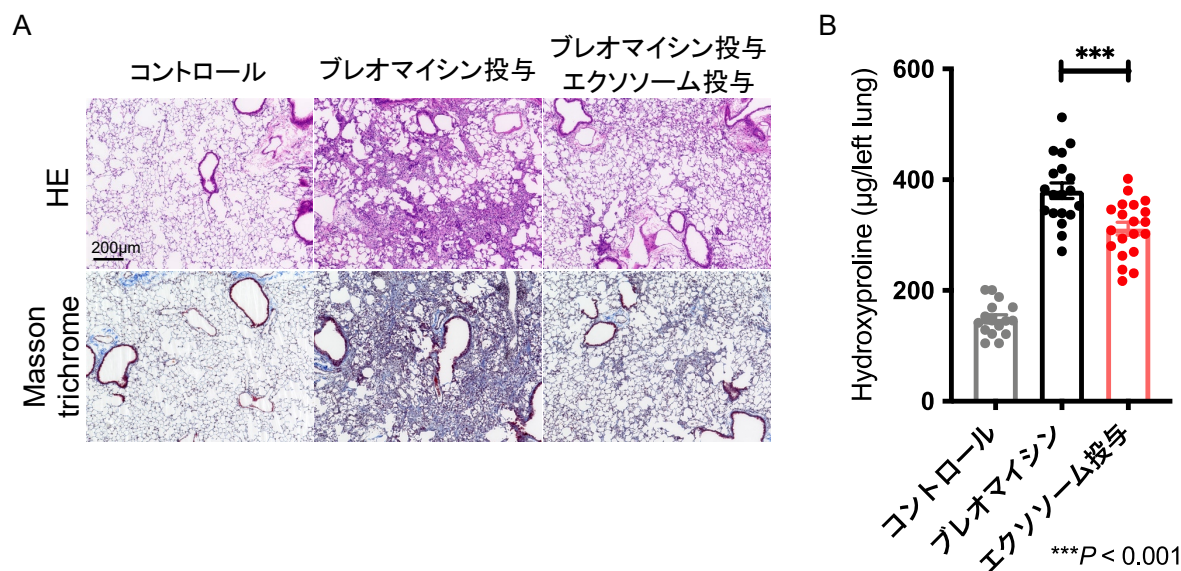
気道上皮細胞エクソソームによる筋線維化細胞分化抑制効果と抗老化作用の機序を検討しました。エクソソームは多彩な分子を内包し複数の機序で作用します。そこでまず肺線維芽細胞に気道上皮細胞由来エクソソームを添加しパスウェイ解析したところ、主に WNT3A, WNT5B, WNT10B の発現抑制を介して古典的 Wnt シグナルと非古典的 Wnt シグナルを抑制することがわかりました。Wnt シグナルは発生や発癌、幹細胞維持など多くの作用を有しますが、線維化や細胞老化にも関与することがすでに知られています。次に、気道上皮細胞エクソソームに含まれる分子を検討しました。エクソソームに含まれる代表的な分子であるマイクロ RNA とタンパク質を網羅的に解析したところ、特にマイクロ RNA が Wnt シグナルの抑制に関与することがわかりました。そのうち、筋線維芽細胞分化抑制効果は miR-16, miR-26a, miR-26b, miR-141, miR-148, miR-200a が WNT5B と WNT10B を抑制することで、抗老化作用は miR-16, miR-26a, miR-26b, miR-141, miR-200a が WNT3A と WNT5B を抑制することで機能することが明らかとなりました。

(iii) 肺線維症マウスへの気道上皮細胞由来エクソソーム経気管内投与が線維化を抑制

気道上皮細胞由来エクソソームの効果をさらに検討するために、ブレオマイシン肺線維症マウスモデルに気道上皮細胞由来エクソソームを経気道投与しました。すると、気道上皮細胞由来エクソソーム投与群で肺線維化が抑制されました (図2)。同様に、マウス肺では Wnt シグナルも抑制され、肺での細胞老化マーカーも改善しました。さらにその効果は、現在様々な臨床試験が行われ新規治療薬として注目されている間葉系幹細胞由来エクソソームよりも優れていました。

以上の結果をまとめると、気道上皮細胞由来エクソソームは主に TGF-β 及び Wnt シグナルを複数のマイクロ RNA で抑制することで抗線維化作用をもち、既存の抗線維化薬やすでに臨床試験が行われている間葉系幹細胞由来エクソソームよりも優れている可能性が示唆されました。

図 2. ブレオマイシン肺線維症マウスへの気道上皮細胞由来エクソソーム経気道投与. A: マウス肺組織の組織染色. B: マウス左肺全体のコラーゲン量 (hydroxyproline)



- 気道上皮細胞由来エクソソームをブレオマイシン肺線維症マウスモデルへ経気道投与すると、肺組織での組織染色で線維化は抑制されており、肺コラーゲン量も統計学的有意に低下した。

3. 今後の展開

本研究結果をもとに、研究グループは気道上皮細胞由来エクソソームを用いた医薬品開発を進めており、早期に特発性肺線維症患者を対象とした医師主導治験を実施する計画です(AMED 橋渡し研究プログラム)。エクソソームを用いた治療薬は、従来の多くの薬剤（シングルターゲット）と異なり、多彩な内包物によるマルチターゲットな薬効を示すことが特徴であり、様々な難病への新たな創薬につながる可能性が期待できます。

4. 脚注、用語説明

注 1. マイクロ RNA：遺伝子ゲノム上にコードされ、20 から 25 塩基長で構成される微小 RNA。機能的な核酸であり、他の遺伝子の発現の調整を行うことで、生体内の様々な現象に重要な役割を担っている。各マイクロ RNA の名称は、“miR”と表記される。

注 2. 超遠心法：エクソソームの現時点での最も標準的な回収方法。

5. 論文タイトル, 著者

掲載誌名: Journal of Extracellular Vesicles (IF=25.841, JCR2020)

論文タイトル: Human bronchial epithelial cell-derived extracellular vesicle therapy for pulmonary fibrosis via inhibition of TGF- β -WNT crosstalk

著者: Tsukasa Kadota, Yu Fujita*, Jun Araya, Naoaki Watanabe, Shota Fujimoto, Hironori Kawamoto, Shunsuke Minagawa, Hiromichi Hara, Takashi Ohtsuka, Yusuke Yamamoto, Kazuyoshi Kuwano, and Takahiro Ochiya*

著者 (日本語表記): 門田宰, 藤田雄, 荒屋潤, 渡邊直昭, 藤本祥太, 川本浩徳, 皆川俊介, 原弘道, 大塚崇, 山本雄介, 桑野和善, 落谷孝広

*藤田雄, 落谷孝広 (責任著者)

6. 主な研究資金

AMED 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

「COVID-19 重症肺炎・ARDS に対する吸入エクソソーム医薬品製造および実用化」

研究代表者: 藤田雄

AMED 次世代がん医療創生研究事業

「がん特異的エクソソームの捕捉による新規体液診断の実用化研究」

研究代表者: 落谷孝広

公益財団法人難病医学研究財団

「エクソソームを用いた肺線維化に対する新規治療法の開発」

研究代表者: 藤田雄

GSK ジャパン研究助成

「肺線維化に対するエクソソームを用いた治療戦略」

研究代表者: 川本浩徳

以上