炎症性シグナルを標的とした新規の肺高血圧症の治療法の開発

中岡良和

国立循環器病研究センター研究所 血管生理学部

【研究の背景】

肺動脈性肺高血圧症（PAH）の治療には近年、プロスタグランジン I_2、エンドセリン受容体拮抗薬、ホスホジエステラーゼ 5 阻害薬などの肺動脈平滑筋細胞の収縮・弛緩の不均衡を標的とした肺血管拡張薬による治療が可能となり、予後が改善しつつある。しかし、膠原病に伴う PAH は予後不良で、その治療は unmet medical needs の 1 つである。現在、PAH に保険適応のある薬剤は全て平滑筋の収縮・弛緩を標的とするため、作用機序の異なる新しい治療薬が必要である。

PAH の発症には遺伝的背景に加え、「炎症」などの環境因子による刺激が必要とされる。PAH 患者の血清中で炎症性サイトカインの中で、特に IL-6 が高値の場合は予後が有意に悪い [1]。また、肺胞上皮特異的 IL-6 過剰発現マウスは PAH を自然発症するのみならず、低酸素曝露性肺高血圧症モデル（Hypoxia-induced PH：HPH）を作製すると PAH 病態が著明に増悪する [2]。以上より、IL-6 は PAH 病態形成の鍵であることが報告されていたが、その下流の分子機構は不明であった。

我々は HPH マウスの肺で、IL-6 が肺細小動脈の内皮細胞、平滑筋細胞で強く産生されること、そして HPH マウスに抗 IL-6 受容体抗体（MR16-1）を投与するとコントロールに比べて HPH 病態が著明に抑制されることを見出した。また、HPH マウス肺で IL-6 依存性のエフェクター細胞として働く Th17 細胞が有意に増加して、Th17 細胞が主に産生する IL-21 が肺胞マクロファージを M2 マクロファージへ極性化することで肺動脈平滑筋細胞の増殖を促進することを明らかにして、以上の結果を 2015 年 5 月に報告した [3]。一方、HPH マウスモデルは、右室収縮期圧（RVSP：正常値 15-20mmHg）が 30-35mmHg に上昇する中等症 PAH モデルであり、肺の細小動脈と小動脈の中膜肥厚のみ誘導するが、亜閉塞性病変を来さない点が問題点として存在する。我々は上記論文にて、MR16-1 による IL-6 阻害や IL-21 受容体欠損（IL-21RKO）マウスにおける IL-21 阻害は低酸素で誘導される中膜肥厚（筋性化）を抑制することを明らかにしたが [3]、重症 PAH 患者で見られる重症の病理像である新生内膜増殖や叢状病変をこれらのシグナル抑制により抑えられるか不明である。本研究では、重症 PAH モデル動物の系を用いて、IL-6/IL-21 シグナルの役割を明らかにしたいと考えた。

【目　　的】

本研究の目的は、PAH 病態の重症化において炎症性サイトカインが担う役割を明らかにすることである。

【方　　法】

ヒトの重症 PAH 患者では、病理学的に中膜肥厚だけでなく、内膜増殖病変・叢状病変のような亜閉塞性/閉塞性の病理像が見られる。ヒト重症 PAH に酷似する病理像と病態を呈するモデル動物として、Sugen/Hypoxia/Normoxia（Su/Hx/Nor）ラットがある [4]。Su/Hx/Nor モデルは VEGFR2 阻害薬（Su）を皮下注後、ラットを 3 週間低酸素曝露（Hx; 10％O_2）して、更に 5 週間正酸素曝露（Nor; 21％O_2）することで、RVSP が体血圧を凌駕するレベル迄に上昇して、病理学的にも叢状病変を来す。本研究は、(1) CRISPR/Cas9 システムを用いて IL-6KO、IL-21RKO ラットを作製して、(2) Su/Hx/Nor モデルで野生型（WT）と KO ラットの PAH に関する表現型を血行動態的、組織学的に比較・検討する。

【結　　果】

(1) CRISPR/Cas9 システムを用いた IL-6KO、IL-21RKO ラットの作製

IL-6KO ラット、IL-21RKO ラットを CRISPR/Cas9 システムを用いて作製した。IL-6KO については、LPS 腹腔内投与後の IL-6 発現誘導の有無を ELISA にて確認し、IL-21RKO については肺組織での蛋白質発現の欠損をウェスタンブロットにて確認して、遺伝子欠損の確認を行った。

(2) Su/Hx/Nor モデルで野生型(WT)と IL-6KO、IL-21RKO ラットの PAH 表現型の比較・検討
まず野生型(SD)ラットで Su/Hx/Nor モデルを作製したところ、従来の報告通りに、血行動態的には RVSP が 100mmHg を超えるレベルの重症 PAH 病態を呈して、組織学的には新生内膜病変や叢状病変を遠位肺小動脈レベル、細小動脈レベルにおいて認めた [4]。本研究で作製した IL-6KO ラット、IL-21RKO ラットで Su/Hx/Nor モデルを作製すると、血行動態での RVSP の有意な改善、組織学的所見の有意な改善が観察された。上記 KO ラットと野生型ラットにおいて、Su/Hx/Nor モデルでの炎症細胞の肺への浸潤や組織像との関連を現在解析中である。

【考　　察】

Su/Hx/Nor モデルの系で野生型(WT)と KO ラットの PAH 表現型を比較・検討したところ、IL-6/IL-21 シグナルは PAH 重症化に重要である可能性が示唆された。今後、上記シグナル経路がどの様なエフェクター細胞を経由して PAH 重症化に機能するかを詳細に明らかにしていく予定である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の結果から、IL-6 や IL-21 シグナルを標的とした分子標的治療が、PAH の新しい治療法として期待し得ると考えられる。現在、PAH に対して使用されている薬剤は何れも肺動脈平滑筋の収縮・弛緩を標的とするもので、肺動脈平滑筋の収縮・弛緩制御以外を標的とする新しい炎症シグナルを標的とした治療法の開発に繋がることが期待される。

【参考・引用文献】

1. Soon E, *et al.* Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension. *Circulation.* 2010;122(9):920-927
2. Steiner MK, *et al.* Interleukin-6 overexpression induces pulmonary hypertension. *Circulation Research.* 2009; 104 (2):236-244
3. Hashimoto-Kataoka T, *et al.* Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112:E2677-2686
4. Abe K, et al. Formation of plexiform lesions in experimental severe pulmonary arterial hypertension. *Circulation.* 2010;121(25):2747-54