

受賞対象論文

Senoo S, Taniguchi A, Itano J, Oda N, Morichika D, Fujii U, Guo L, Sunami R, Kanehiro A, Tokioka F, Yoshimura A, Kiura K, Maeda Y, Miyahara N: Essential role of IL-23 in the development of acute exacerbation of pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2021) 321, L925-L940.

ハイライト

- ・マウス肺線維症急性増悪モデルを用いて、IL-23が病態に関与していることを示した。
- ・肺線維症急性増悪の患者検体を用いた検討で、IL-23が病態に関与している可能性が示唆された。
- ・IL-23が肺線維症急性増悪の新規治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

妹尾 賢

Satoru Senoo



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学

Department of Hematology, Oncology, Allergy and Respiratory Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<プロフィール>

2010年3月 岡山大学医学部医学科卒業
2010年4月 中国中央病院 初期研修医
2012年4月 中国中央病院 内科 医員
2015年10月 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 医員
2017年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学
2022年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了
現在に至る

研究の背景と経緯

特発性肺線維症（IPF）は進行性の肺線維化を特徴とした予後不良な疾患であり、生存期間中央値は約3年とされている¹⁾。我が国においてIPF患者の40%が急性増悪で死亡していると報告されている²⁾。急性増悪は年間で4.8～14.2%程度の発症率であり、その致命率は約50%と高い³⁾。IPFの進行を抑制する薬剤としてピルフェニドン、ニンテダニブの2剤が認可されているが^{4,5)}、IPF急性増悪に対するエビデンスレベルの高い治療は存在せず、治療の確立が求められている。

IL-23はマクロファージや樹状細胞から分泌される炎症性サイトカインである。2つのサブユニットからなるが、p19はIL-23固有であり、p40はIL-12と共通のサブユニットである。我々のグループでは過去にIL-23と慢性閉塞性肺疾患（COPD）の関連について報告し、IL-23がCOPDの病態に促進的に働くことを示している⁶⁾。IL-23はCD4陽性IL-17A産生細胞（Th17細胞）、CD8陽性IL-17A産生細胞（Tc17細胞）などの分化を誘導するとされている。近年では3型自然リンパ球（ILC3）の分化誘導作用も注目されている⁷⁾。こ

れらの免疫細胞はIL-17Aを介して好中球性炎症に関与すると考えられている。

特発性肺線維症の急性増悪患者において、血清及び気管支肺胞洗浄液（BALF）において好中球数が増加していることや、好中球を誘導するケモカイン濃度が上昇していることが報告されている^{8,9)}。IL-23が好中球性炎症に関与することから、急性増悪の発症や進展にIL-23が関与している可能性があると考えた。

今回我々はブレオマイシン（BLM）とリポポリサッカライド（LPS）によって誘導されたマウス肺線維症急性増悪モデル¹⁰⁾を用いて、IL-23の肺線維症急性増悪における役割について検討を行った。

研究成果の内容

1. BLM および LPS の投与により気道中の IL-23 は上昇し、気道炎症および肺の線維化がみられる

C57BL/6マウスに対してBLMをday0に気管内投与し、LPSをday7に気管内投与することで肺線維症急性増悪モデルを作製した。コントロールとしてはPBSを投与した群を置いた。Day8およびday14に

BALF および肺を採取し、検討を行った。BALF 中の炎症細胞数はBLMとLPSの両者を投与した群 (BLM/LPS 群) の day 8 で上昇しており、分画は好中球が最も多かった。また BALF 中の炎症性サイトカイン濃度も同様に、BLM/LPS 群の day 8 で最も高かった。IL-23濃度はBLM/LPS 群の day 8 で有意に上昇し、その下流に位置する IL-17A および IL-22も day 8 で最も上昇していた。Day14では炎症所見が治まっていたが、肺の線維化は最も強く見られた。

以上から本モデルにおいて IL-23の関与が示唆された。また以後の動物実験において炎症の評価を day 8, 線維化の評価を day14に行うこととした。

2. IL-23欠損マウスでは肺線維症急性増悪において気道炎症および肺の線維化が野生型マウスに比し軽減している

次に野生型 (WT) マウスと IL-23p19欠損 (IL-23^{-/-}) マウスで肺線維症急性増悪モデルを作製し、両群を比較検討した。Day 8 における BALF 中の総細胞数、好中球数、炎症性サイトカインは WT マウスと比較して IL-23^{-/-} マウスで有意に低下していた。特に IL-23の下流に位置するサイトカインである IL-17A および IL-22で顕著であった。また day14における肺線維化も同様に IL-23^{-/-} マウスで WT マウスに比し、有意に軽減しており、肺内のフィブロネクチンの発現が低下していた。

3. 抗 IL-12/23p40抗体治療で気道炎症および肺の線維化が抑制される

IL-23を制御する抗体治療として、共同研究者が開発した抗 IL-12/23p40抗体を本モデルに投与し治療効果を検討した。IL-23のサブユニットである p40は前述のように IL-12と共通であり、本抗体は IL-12と IL-23の両者を阻害する作用を持つ。

抗 IL-12/23p40抗体投与群では day 8 において BALF 中の総細胞数および好中球数が有意に抑制されていた。Day 8 における炎症性サイトカイン濃度も抑制されていた。IL-17A および IL-22は著明に抑制されており、本製剤により IL-23/IL-17A・IL-22経路が抑制されているものと考えられた。その一方で、IL-12の下流に位置する IFN- γ の抑制効果はわずかし認められず、本抗体の治療効果は IL-12よりも IL-23を阻害することによるものと考えられた。

Day14における線維化も抗 IL-12/23p40抗体の投与によって有意に抑制され、肺内のフィブロネクチンの

発現も抑制されていた。

4. 肺組織中の Th17は急性増悪で上昇し、抗 IL-12/23p40抗体治療で減少する

過去の報告で肺線維症と IL-17A に関連があり、IL-17A は線維化や炎症の増悪因子であるとされている。今回の肺線維症急性増悪モデルについて、IL-17A の分泌能に着目してフローサイトメトリーで肺内の免疫細胞を評価した。Th17が本モデルで上昇し抗 IL-12/23p40抗体投与で減少することが確認できた。Tc17は急性増悪群で上昇していたものの、細胞数の絶対値が Th17と比較して少ないものであった。また ILC3はBLM/PBS 群で最も上昇し、BLM/LPS 群では逆に減少する結果であった。以上から、急性増悪の病態に最も関与するのは Th17であると考えられた。

5. ヒト間質性肺炎急性増悪の BALF 中の IL-23解析

最後に倫理委員会の承認を得たうえで、ヒト検体を用いた解析を行った。特発性肺線維症を含めた特発性間質性肺炎の症例について、安定期および急性増悪期の BALF 検体を解析した。BALF 中の総細胞数および好中球割合は急性増悪期で有意に高かった。BALF 中の IL-23濃度を測定したところ、急性増悪期の症例で安定期症例に比較し、高い傾向にあった。好中球性炎症に関与する IL-8濃度も測定したところ、同様に急性増悪期の症例で高い傾向にあった。IPF 症例に限った解析でも同様の傾向であった。また解析対象となった全症例について IL-23濃度と好中球数、IL-23濃度とマクロファージ数についてそれぞれ相関関係を評価したところ、両者で有意な正の相関関係を認めた。マクロファージは IL-23の産生源として重要であり、また IL-23は好中球性炎症に関与することから、我々の仮説を裏付けるものと考えた。

研究成果の意義

本研究では、①マウス肺線維症急性増悪モデルに IL-23が関与していること、② IL-23^{-/-} マウスでは急性増悪による炎症や線維化が野生型マウスに比し軽減していること、③抗 IL-12/23p40抗体投与によっても炎症や線維化が抑制されること、④抗 IL-12/23p40抗体の治療効果は IL-23/Th17経路がかかわっていること、⑤ヒト間質性肺炎急性増悪および IPF 急性増悪においても IL-23が関与している可能性があることを示した (図1)。肺線維症急性増悪に関してマウスモデル

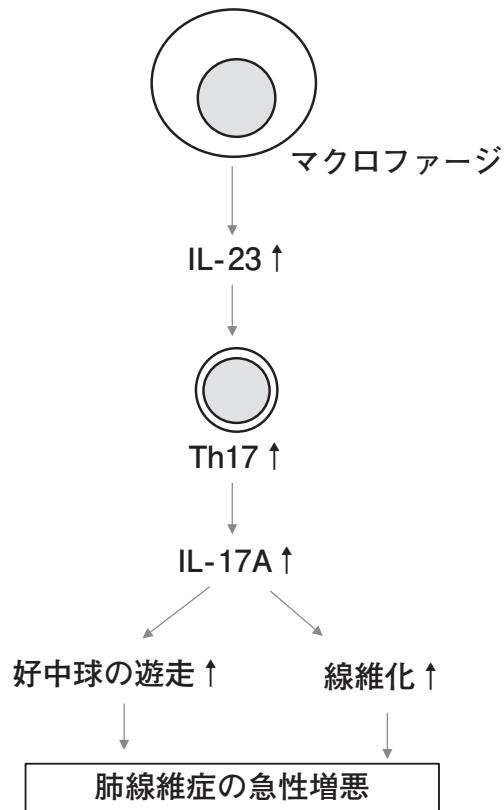


図1 肺線維症急性増悪とIL-23の役割

を用いて検証した報告は少なく、IL-23と肺線維症急性増悪の関連について報告したのは検索の限りで我々が初めてである。また実際のIPF急性増悪においてもIL-23が関与している可能性があることも初めて示した。これらの知見からIL-23を標的とした治療が有用である可能性が示唆された。

今後の展開や展望

IL-23を標的とした抗体製剤はウステキヌマブ(ステラーラ®)、グセルクマブ(トレムフィア®)などの名称で知られ、尋常性乾癬や炎症性腸疾患などの治療として既に認可されている。実際にIPF急性増悪に対してこれらの製剤の有効性を示すことができれば、drug repositioningによる新規治療開発が可能となるかもしれない。抗IL-23抗体を用いた治療の臨床応用の可能性を検討できればと考えている。

文 献

- 1) Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, Richeldi L, Ryerson CJ, et al.: Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med* (2018) 198, e44-e68.
- 2) Natsuizaka M, Chiba H, Kuronuma K, Otsuka M, Kudo K, et al.: Epidemiologic survey of Japanese patients with idiopathic pulmonary fibrosis and investigation of ethnic differences. *Am J Respir Crit Care Med* (2014) 190, 773-779.
- 3) Collard HR, Ryerson CJ, Corte TJ, Jenkins G, Kondoh Y, et al.: Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis an international working group report. *Am J Respir Crit Care Med* (2016) 194, 265-275.
- 4) Higo H, Miyahara N, Taniguchi A, Senoo S, Itano J, et al.: Deterioration of high-resolution computed tomography findings predicts disease progression after initial decline in forced vital capacity in idiopathic pulmonary fibrosis patients treated with pirfenidone. *Respir Investig* (2020) 58, 185-189.
- 5) Senoo S, Miyahara N, Taniguchi A, Oda N, Itano J, et al.: Nintedanib can be used safely and effectively for idiopathic pulmonary fibrosis with predicted forced vital capacity ≤ 50%: A multi-center retrospective analysis. *PLoS One* (2020) 15, e0236935.
- 6) Fujii U, Miyahara N, Taniguchi A, Waseda K, Morichika D, et al.: IL-23 is essential for the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* (2016) 55, 697-707.
- 7) Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ: The IL-23-IL-17 immune axis: From mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol* (2014) 14, 585-600.
- 8) Papiris SA, Tomos IP, Karakatsani A, Spathis A, Korbila I, et al.: High levels of IL-6 and IL-8 characterize early-on idiopathic pulmonary fibrosis acute exacerbations. *Cytokine* (2018) 102, 168-172.
- 9) Schupp JC, Binder H, Jäger B, Cillis G, Zissel G, et al.: Macrophage activation in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One* (2015) 10, 1-11.
- 10) Kimura T, Nojiri T, Hosoda H, Shintani Y, Inoue M, et al.: Exacerbation of bleomycin-induced injury by lipopolysaccharide in mice: establishment of a mouse model for acute exacerbation of interstitial lung diseases. *Eur J Cardiothorac Surg* (2015) 48, e8-e91.

2022年6月2日受稿

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7227 FAX: 086-232-8226

E-mail: pflq214m@s.okayama-u.ac.jp