

論 文 内 容 要 旨

題目 The novel inhibitor PRI-724 for Wnt/ $\beta$ -catenin/CBP signaling ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

(ブレオマイシン肺線維症マウスに対する Wnt/ $\beta$ カテニン/CBP シグナル新規阻害薬 PRI-724 の抗線維化効果)

著者 岡崎弘泰, 佐藤正大, 小山壺也, 森住俊, 阿部秀一, 東桃代, 陳亞娟, 後東久嗣, 青野純典, 小川博久, 香川耕造, 西村春香, 河野弘, 豊田優子, 上原久典, 小路弘行, 西岡安彦  
令和元年7月12日発行 Experimental lung research 雑誌  
第45巻第7号 188ページ~199ページに発表済

内容要旨

特発性肺線維症 (IPF) は原因不明の慢性肺線維化疾患で、診断後の平均生存期間は2~4年と予後不良である。IPFは繰り返す肺胞上皮傷害とそれに続く線維芽細胞の活性化を特徴とするが、その細胞分子病態には不明の点が多い。Wnt/ $\beta$ カテニンシグナルは線維化肺の肺胞上皮細胞や肺線維芽細胞で活性化していることが報告され、その制御による治療薬の開発が期待されているが、肺線維症における Wnt/ $\beta$ カテニンシグナルの解析は十分ではない。

そこで申請者らは  $\beta$ -カテニンと転写共役因子 CREB-binding protein (CBP) との結合を阻害する目的で合成された低分子化合物 PRI-724 を用い、ブレオマイシン (BLM) 肺線維症モデルマウスにおける抗線維化効果と作用機序の解析を行った。

まずマウス肺線維芽細胞株およびマクロファージ細胞株を用いて、PRI-724 による Wnt/ $\beta$ カテニンシグナルへの作用を検討した。いずれの細胞株においても Wnt3a 刺激による Wnt/ $\beta$ カテニンシグナルの活性化の結果、ウエスタンブロッティング法により  $\beta$ カテニンの核内移行が確認された。PRI-724 の活性代謝産物 C-82 の処理は、肺線維芽細胞において核内における  $\beta$ カテニンの CBP への結合を阻害し、p300 への結合を増加した。同時に、C-82 は TGF- $\beta$ 1 で誘導される肺線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を阻害した。

次に、C57BL/6 マウスにおける BLM 肺線維症モデルを用いて、PRI-724 の抗線維化効果を検討した。その結果、PRI-724 は肺線維症モデルの前期 (day 3~21)

## 様式(8)

の投与では抗線維化作用を示さなかったが、後期投与 (day 21~35) により肺線維症が抑制された。そこで、蛍光免疫染色法により線維化肺における Wnt/ $\beta$  カテニンシグナルの活性化細胞について検討した。抗 nonphospho- $\beta$ -catenin 及び抗 pY654- $\beta$ -catenin 抗体による染色の結果、肺胞上皮細胞および線維芽細胞に比較して、肺胞マクロファージにおいて核内の  $\beta$  カテニン染色が陽性の細胞を多く認めた。

気管支肺胞洗浄液 (BALF) を用いた検討では、PRI-724 後期投与群における day 28 での BALF 中の肺胞マクロファージ数が減少しており、同時に BALF 中 TGF- $\beta$  1 の有意な低下を認めた。

BLM 投与 1 週間後の BALF より回収した肺胞マクロファージに C-82 を処理した結果、TGF- $\beta$  1 の産生抑制及び TGF- $\beta$  1 mRNA の発現抑制を認めた。

以上より PRI-724 による Wnt/ $\beta$  カテニンシグナルの制御は抗線維化効果を有し、その作用にマクロファージが関与する可能性が示唆されるとともに、PRI-724 の抗線維化薬としての応用が期待される。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1431</b> 号	氏名	岡崎 弘泰
審査委員	主査 安友 康二 副査 常山 幸一 副査 峯岸 克行		

題目 The novel inhibitor PRI-724 for Wnt/ $\beta$ -catenin/CBP signaling ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice  
(ブレオマイシン肺線維症マウスに対する Wnt/ $\beta$  カテニン/CBP シグナル新規阻害薬 PRI-724 の抗線維化効果)

著者 Hiroyasu Okazaki, Seidai Sato, Kazuya Koyama, Shun Morizumi, Shuichi Abe, Momoyo Azuma, Yajuan Chen, Hisatsugu Goto, Yoshinori Aono, Hirohisa Ogawa, Kozo Kagawa, Haruka Nishimura, Hiroshi Kawano, Yuko Toyoda, Hisanori Uehara, Hiroyuki Kouji and Yasuhiko Nishioka  
令和元年7月12日発行 Experimental Lung Research  
第45巻第7号 188 ページ～199 ページに発表済  
(主任教授 西岡 安彦)

要旨 特発性肺線維症 (IPF) は慢性進行性の予後不良な肺線維化疾患である。IPF は繰り返す肺胞上皮傷害とそれに続く線維芽細胞の活性化を特徴とするが、その細胞分子病態には不明の点が多い。Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルは線維化肺の肺胞上皮細胞や肺線維芽細胞で活性化していることが報告され、その制御による治療薬の開発が期待されている。

そこで申請者らは、 $\beta$ -カテニンと転写共役因子 CREB-binding protein (CBP)との結合を阻害する目的に合成された低分子化合物 PRI-724 を用い、ブレオマイシン肺線維症モデルマウスにおける抗線維化効果と作用機序の解析を行った。

得られた結果は以下のとおりである。

- 1) PRI-724 の活性代謝産物である C-82 は、肺線維芽細胞の核内における  $\beta$ -カテニンと CBP との結合を阻害し、p300 との結合を増加させた。
- 2) C-82 は TGF- $\beta$  によって誘導される肺線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を阻害した。
- 3) ブレオマイシン肺線維症モデルの検討では、PRI-724 は線維化期の早期投与では効果を示さず、後期投与において抗線維化効果を示した。
- 4) 線維化後期の肺組織の蛍光 2 重免疫染色では、CD68 陽性マクロファージの核内に  $\beta$ -カテニンが強く染色された。
- 5) PRI-724 投与マウスでは線維化後期に気管支肺胞洗浄液中の肺胞マクロファージの減少と TGF- $\beta$  濃度の低下を認めた。
- 6) 線維化肺から回収した肺胞マクロファージを C-82 で処理すると TGF- $\beta$  産生は低下した。

以上から、Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルの制御は肺胞上皮細胞や線維芽細胞に加え、マクロファージに対する TGF- $\beta$  産生抑制などの多彩な作用を介して抗線維化効果を期待できる可能性が示唆された。

本研究は、肺線維症における Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルに関わる疾患分子病態の解明と、IPF に対する新たな治療法の開発研究に寄与するところ大であり、学位授与に値すると判定した。