

(注意：本研究の報道解禁日時は10月10日9時(U.S.ET) (日本時間10日22時)です)

## 特発性肺線維症の原因となる遺伝子変異を解明

### (ポイント)

・特発性肺線維症(IPF)<sup>[1]</sup>は、診断後3~5年で死に至る重篤な疾患であり指定難病の一つです。IPFの病態については数多くの研究がありますが、未だ詳細な発症機序は不明でした。

・IPFを模倣する動物モデルとしてはブレオマイシン誘導性モデル<sup>[2]</sup>がよく使われていますが、ヒトのIPFを正確に模倣しているわけではないことから、IPFの動物モデルの開発が求められています。

・家族性に発症するIPFの頻度は極めて低いものの、遺伝性疾患から単一の原因変異を同定することができれば、IPFの発症あるいは進展の機序に迫ることができると考えられます。今回の研究では、家族性IPFのゲノム解析から原因となる遺伝子として*SFTPA1*<sup>[3]</sup>を同定することに成功しました。*SFTPA1*変異によりII型肺胞上皮細胞(AEII細胞)のnecroptosis<sup>[4]</sup>が亢進することが病態の起点であることを、同変異を持ちヒト疾患を模倣することができるモデルマウスを樹立することで解明しました。

・本研究から、IPFのこれまで知られていなかった原因遺伝子と発症機序が明らかになり、necroptosis経路を標的としたIPFの新たな治療法が開発が期待されます。

### (概要)

徳島大学大学院医歯薬学研究部(医学系)の安友康二教授らの研究グループは、家族性IPFのゲノム解析から、その原因遺伝子として*SFTPA1*を同定し、*SFTPA1*の変異によりAEII細胞のnecroptosisが亢進することが病態の起点になっていることを解明しました。

IPFは、診断後3~5年で約半数が死亡する非常に重篤な疾患です。これまでIPFの病態解析については数多くの研究がなされ、各種の知見が蓄積されているものの、未だその正確な病態は不明でした。また、IPFの動物モデルとしては、主にブレオマイシン誘導性のマウスモデルが用いられてきましたが、ブレオマイシン誘導性の動物モデルはヒトIPFを正確に模倣できているとはいえ、IPFの治療薬開発のためにはIPFと同様の経過をとる動物モデルの開発が求められていました。

今回、安友教授らのグループは家族性IPFの家系を対象としたゲノム解析により、*SFTPA1*の変異がその原因であることを見出しました。*SFTPA1*はサーファクタントプロテインAをつくる遺伝子の一つであり、*SFTPA1*の遺伝子変異により、*SFTPA1*の分泌が障害されていました。

SFTPA1 は、AEII 細胞から分泌されることが知られています。その分泌障害がどのように IPF の発症に寄与するかを知るために、同じ変異を持つマウスを樹立したところ、マウスでもヒトと同様の肺線維症を自然発症することがわかりました。IPF 罹患患者では各種の肺感染症で急性増悪することが知られていることから、本モデルマウスでも同様の病態が観察されるかを検討したところ、インフルエンザウイルス感染で急性増悪することが確認され、このモデルマウスはヒト IPF を模倣する優れた自然発症モデルになると考えられました。このモデルマウスを利用した実験の結果、AEII 細胞では SFTPA1 の分泌障害により、IRE1 $\alpha$  の活性化とそれに引き続く JNK 経路の活性が誘導されることが明らかになりました。その結果、RIPK3 が発現上昇し、AEII 細胞の necroptosis の亢進が観察されました。

本研究から、IPF の新たな原因遺伝子が同定され、未解明であった IPF の発症機序として necroptosis の亢進が解明されたことから、necroptosis 経路を標的とする IPF の治療法の開発につながることを期待されます。

本研究成果は、10 月 10 日付けで米国科学雑誌「The Journal of Experimental Medicine」オンライン版に公開されます。

## （背景）

IPF は、多くの場合には 50 歳以上で発症し、喫煙との関連性が高いことが知られています。発症率としては 10 万人あたり 10~20 人とされていますが、未発症で診断がついていない早期病変の患者さんを含めると更に頻度は高いと考えられています。IPF は診断後早期に死亡することが多いことから、その病態解明と治療薬開発が求められています。未だ死亡率を劇的に改善させる薬剤は開発されていないのが現状です。IPF の大半は孤発性ですが、稀に家族性 IPF もあることが知られています。これまで、家族性 IPF の患者さんのゲノム解析では、*TERC* や *TERT* などのテロメラーゼ関連の遺伝子あるいはサーファクタントプロテイン C の遺伝子などが報告されましたが、家族性 IPF の中でも 70% 以上はその原因遺伝子が不明でした。

疾患の病態解析には、その疾患の一部を模倣する各種の動物モデルが用いられます。これまで、IPF のモデルマウスとして、ブレオマイシンを全身あるいは気管内に投与するモデルが世界中で用いられてきました。しかし、ブレオマイシンを投与するモデルマウスのような薬剤誘導性のモデルは、ヒトの IPF を正確に模倣しているとはいえ、IPF の自然発症モデルが求められていました。

今回、安友教授らの研究グループは日本における家族性 IPF の家系例を調査し、IPF の一家系を見出しました。その家系例のゲノム解析を実施することで、原因遺伝子と

して *SFTPA1* を同定し、さらに *SFTPA1* の変異を持ちかつ病態を正確に模倣することができるモデルマウスを樹立することで、その後の発症機序の解析を行いました。

### （研究手法と成果）

近親婚歴を有する家族性 IPF の家系例のゲノムサンプルを用いて、連鎖解析[5]、ホモ接合体マッピング[6]とエクソーム解析[7]を行い、その原因となる変異として *SFTPA1* のミスセンス変異を同定しました(図 1)。 *SFTPA1* のミスセンス変異[8]によって *SFTPA1* の分泌が障害されていることがわかりました。

*SFTPA1* のミスセンス変異がどのように IPF の発症に関与するかを知るために、マウスの *Sftpa1* にもヒトと同じ変異を導入しました(*Sftpa1*-KI マウス)。 *Sftpa1*-KI マウスでは、約 40 週齢頃からマウスが肺線維症で死亡し始めることが観察され、ヒト疾患を正確に模倣しているマウスであると考えられました(図 2)。また、 *Sftpa1*-KI マウスにインフルエンザウイルスを感染させると肺線維症を急性増悪することも観察され(図 3a)、肺線維症の発症機序を解析するために非常に有用なマウスモデルであると考えられます。

*Sftpa1*-KI マウスの肺組織を検証した結果、 AEII 細胞の細胞死が亢進していることが同定されました。どのタイプの細胞死が関与しているかを検証した結果、necroptosis がその細胞死に関与していることが明らかになりました。実際に、 *Sftpa1*-KI マウスにおいて、necroptosis の制御分子である *Mkl1* を欠損させると肺線維症の発症が抑制されることが観察されました(図 3)。

次に necroptosis の亢進の機序について解析を行ったところ、 *IRE1 $\alpha$*  経路[9]とそれに引き続く *JNK* が活性化してその結果 *RIPK3* の発現が亢進していることを見出しました。 *RIPK3* が AEII 細胞で過剰に発現することによって AEII 細胞の necroptosis への感受性が亢進していることも明らかになり、それが *SFTPA1* 変異による IPF の起点であることが解明されました(図 4)。

### （研究成果の意義・今後の展望）

本研究により、IPF の原因となる新たな遺伝子が明らかになり、未解明であった IPF の発症機序として necroptosis の亢進が明らかになりました。またその上流経路として ER (小胞体) ストレスの亢進が寄与していることも解明されました。以上の成果から、それらの分子経路が IPF の新たな治療標的になり得ることが考えられます。また、本研究から necroptosis が病気の起点になっていることが解明されましたが、その後どのような経路を介して IPF が進むかについては、明らかになっていません。今

回の研究で開発した Sftpa1-KI マウスを用いることで、necroptosis 以後の経路を明らかにし、線維化を誘導する新たな治療標的を見出す研究に取り組んでいきたいと考えています。

## （用語解説）

### [1] 特発性肺線維症（IPF）

原因が不明の肺の線維化を特徴とする疾患で、診断後 3～5 年で大半は死亡する重篤な疾患である。多くは孤発例として発症するが、稀に家族性に発症することが知られている。

### [2] プレオマイシン誘導性肺線維症モデル

プレオマイシンを気管内に一回投与することで誘導する肺線維症のマウスモデル。

### [3] necroptosis

上流経路により活性化されたリン酸化 MLKL が細胞膜に穴を空けることで誘導される細胞死。

### [4] SFTPA1

サーファクタントプロテイン A の構成分子の一つである。サーファクタントプロテイン A はリン脂質とアポタンパクから構成され、自然免疫作用や肺胞内のリン脂質を保つ作用を持つ。

### [5] 連鎖解析

原因遺伝子が染色体のどの部分に存在するかを解析する方法

### [6] ホモ接合体マッピング

劣性遺伝子がホモ接合体で存在する染色体上の領域を解析する方法。

### [7] エクソーム解析

エクソン領域およびエクソンとイントロンの境界領域の遺伝子配列を解析する方法。

### [8] ミスセンス変異

遺伝子配列上の塩基が異なる塩基へと置換する変異

### [9] IRE1 $\alpha$

細胞の小胞体膜上に存在するタンパク質であり、小胞体ストレスにより活性化するタンパク。

## （図）

### SFTPA1変異と分子構造

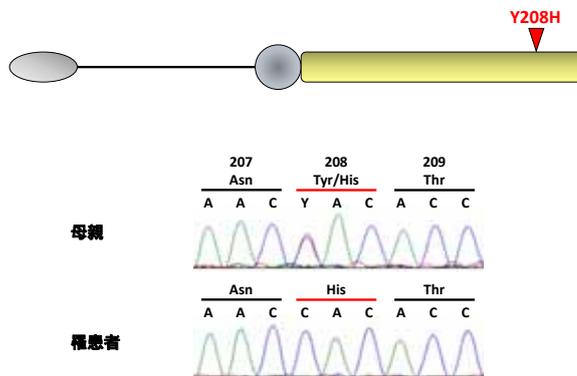


図 1 : SFTPA1 分子の構造と遺伝子変異

上段 ; SFTPA1 分子の全体構造と今回発見された変異部位(208 番目のアミノ酸がチロシンからヒスチジンへ変わっている)。

下段 ; 母親と罹患者の遺伝子変異を示している。

### Sftpa1-KIマウスは肺線維症を自然発症する

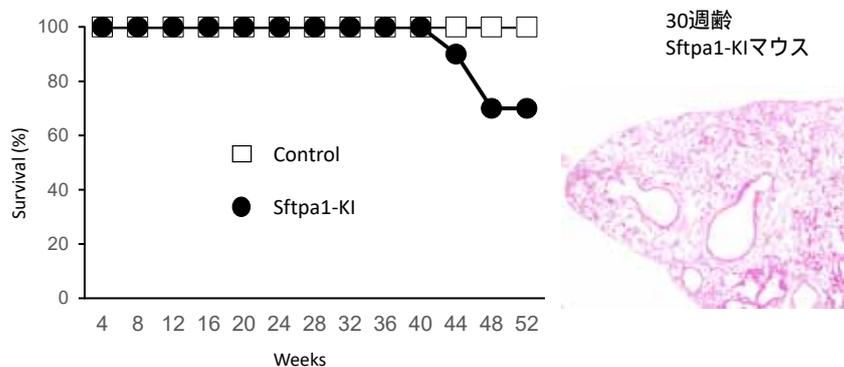


図 2 : Sftpa1-KI マウスは肺線維症を自然発症する

Sftpa1-KI マウスとコントロールマウスの生存率 (左側) と 30 週齢の Sftpa1-KI マウスの肺組織像 (右側) を示している。30 週齢のマウスの肺では既に線維化像が観察されている。

Sftpa1-KIマウスに*Mkl1*遺伝子を欠損させると病態が改善する

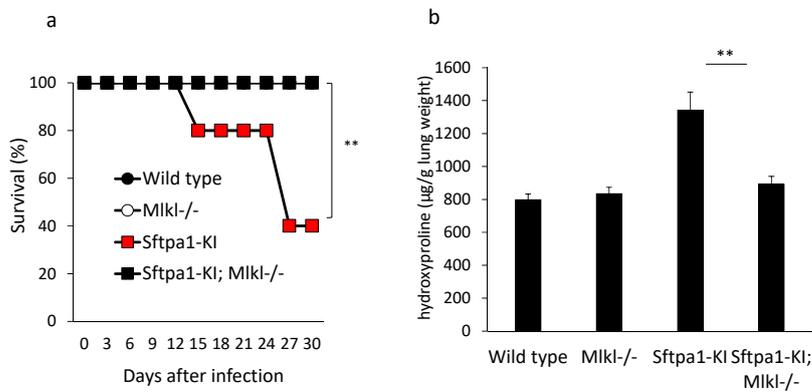


図 3： Sftpa1-KI マウスに *Mkl1* 遺伝子を欠損させると病態が改善する

- インフルエンザウイルス感染後のマウス生存率：Sftpa1-KI マウスに *Mkl1* 遺伝子を欠損させるとマウスの生存率が改善する。  
\* と についての生存率はグラフ上で と全く重なっている。
- インフルエンザウイルス感染後の肺の hydroxyproline 量；Sftpa1-KI マウスに *Mkl1* 遺伝子を欠損させると、肺線維化の指標の一つである hydroxyproline 量が低下する。

今回の研究から解明されたIPFの発症機構

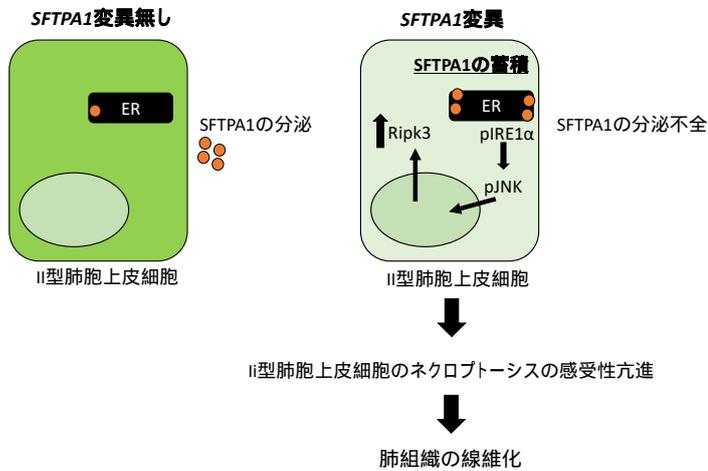


図 4：今回の発見の模式図

SFTPA1 の変異によって AEII 細胞に SFTPA1 (オレンジ色の ) が小胞体 (ER) に蓄積し、その結果として IRE1α が活性化する。IRE1α は JNK を活性化することで RIPK3 の発現を増強させる。その結果、AEII 細胞が necroptosis に陥りやすくなる。Necroptosis の亢進から肺線維化に至る過程については今後の検討課題である。

**(発表論文)**

**論文名：**

“ A homozygous *SFTPA1* mutation drives necroptosis of type II alveolar epithelial cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis ”

**著者名：**

Akio Takezaki<sup>1,2</sup>, Shin-ichi Tsukumo<sup>1</sup>, Yasuhiro Setoguchi<sup>3</sup>, Julie G. Ledford<sup>4</sup>, Hisatsugu Goto<sup>2</sup>, Kazuyoshi Hosomichi<sup>5</sup>, Hisanori Uehara<sup>6</sup>, Yasuhiko Nishioka<sup>2</sup>, Koji Yasutomo<sup>1\*</sup> (責任著者)

**所属：**

- <sup>1</sup> 徳島大学大学院医歯薬学研究部・生体防御医学
- <sup>2</sup> 徳島大学大学院医歯薬学研究部・呼吸器膠原病内科
- <sup>3</sup> 東京医科大学・呼吸器内科
- <sup>4</sup> アリゾナ大学・分子医学講座
- <sup>5</sup> 金沢大学医薬保健研究域・革新ゲノム情報学
- <sup>6</sup> 徳島大学病院・病理部

**雑誌名：**

The Journal of Experimental Medicine

**DOI:**

10.1084/jem.20182351

**(特記事項)**

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST) 「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究開発領域における研究開発課題「稀少遺伝性炎症疾患の原因遺伝子同定に基づく炎症制御法の開発」(研究開発代表者：安友康二)、新学術領域研究「ダイイングコード」などの支援を受けて行われました。なお、AMED-CREST の研究開発領域は、平成 27 年 4 月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) より移管されたものです。

**（お問い合わせ先）**

**研究に関すること**

安友康二（やすとも こうじ）

徳島大学 大学院医歯薬学研究部(医学系) 生体防御医学分野 教授

TEL : 088(633)7048

FAX : 088(633)7114

E-mail : yasutomo[at]tokushima-u.ac.jp

**報道に関すること**

徳島大学総務部総務課

TEL : 088(656)7021

E-mail : kohokakari[at]tokushima-u.ac.jp

**AMED に関すること**

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

基盤研究事業部研究企画課

TEL : 03(6870)2224

E-mail : kenkyuk-ask[at]amed.go.jp