



LTBP2 is secreted from lung myofibroblasts and is a potential biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-11-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 榎本, 泰典 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003441

博士 (医学) 榎本 泰典

論文題目

LTBP2 is secreted from lung myofibroblasts and is a potential biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis

(LTBP2 は肺筋線維芽細胞より分泌される、特発性肺線維症の潜在的な血清バイオマーカーである)

論文の内容の要旨

[はじめに]

特発性肺線維症(Idiopathic pulmonary fibrosis: IPF)は原因不明で予後不良な慢性呼吸器疾患である。本症患者の経過は非常に多彩であり、病勢を反映する、あるいは予後を予測できるバイオマーカーの臨床的意義は大きい。

肺の線維化は、上皮、血球、間葉系細胞等の相互作用による、連続的かつ複雑な機序によると想定されているが、中でも transforming growth factor (TGF) β 等の液性因子の刺激による線維芽細胞から alpha-smooth muscle actin (α SMA)陽性筋線維芽細胞への分化は、線維化の根幹とも言える重要なプロセスである。しかしながら、これまでにこのプロセスを反映した IPF のバイオマーカーは報告されていない。

[方法]

ブレオマイシン誘導性肺線維症モデルマウス肺から筋線維芽細胞(CD49e⁺Sca-1⁻Lineage[CD45/TER119/CD324/CD31/CD146/LYVE-1]⁻)を、非介入マウス肺から定常状態の線維芽細胞(PDGFR α ⁺Lineage⁻)を、フローサイトメトリーを用いて直接単離する。マイクロアレイにより両細胞群における遺伝子発現の網羅的比較を行う。

筋線維芽細胞に高発現している遺伝子群の中で、 α SMA をコードする遺伝子 *Acta2* とシグナル比が近似し、かつ細胞外分泌タンパク質をコードする遺伝子を同定する。またこの発現が、ヒト肺線維芽細胞を用いた実験系においても再現されるか、qRT-PCR、ELISA を用いて検証する。また、同タンパク質の局在、産生源を、健常者肺(n = 3)及び IPF 患者肺(n = 11)の免疫染色を用いて推定する。

健常者(n = 31)および IPF 患者(n = 116)血清で、同タンパク質の濃度を測定する。さらにその値と、患者の臨床情報との関連性を後方視的に検証する。

なお、本研究は浜松医科大学動物実験委員会 (No. 2015008) および院内倫理委員会 (No. 15-197、15-165) の承認を得て行われた。

[結果]

マイクロアレイの解析から、マウス筋線維芽細胞に有意に高発現する遺伝子 *Ltbp2* (latent TGF β -binding protein-2)を同定した。*in vitro* でヒト肺線維芽細胞を TGF β 1 で刺激すると、*ACTA2*-mRNA の発現上昇と合わせて *LTBP2*-mRNA の発

現が上昇していた。また培養上清中タンパク質濃度の比較から、TGFβ1 刺激を受けた(筋)線維芽細胞では LTBP2 細胞外分泌量が増加することがわかった。

免疫染色の結果、正常肺では気管支・血管束周囲のみに LTBP2 の発現を認め、間質には有意な染色性を認めなかった。一方 IPF 患者肺においては、肥厚した間質の主として細胞外領域に多量の LTBP2 沈着を認めた。また一部の筋線維芽細胞及びその周囲においてよく染色されていた。血球、上皮、内皮等における発現は明らかでなかった。以上より、IPF 患者肺における LTBP2 の主たる産生源は、間質における一部の筋線維芽細胞であると推定された。

健常者と比較し IPF 群では、血清 LTBP2 濃度が有意に高値を示した($p < 0.001$)。IPF 患者における LTBP2 値は、努力性肺活量と負の相関($r = -0.369$)を示し、また半年以内の急性増悪発症例($p < 0.01$)で有意に高値であった。Cox 比例ハザードモデルの結果、血清 LTBP2 濃度は予後不良例ほど高値を示すことがわかった(ハザード比 = 1.040, 95%信頼区間 = 1.026 – 1.054)。

[考察]

LTBP2 は分子量 190-240 kDa の細胞外マトリクスタンパク質で、ノックアウトマウスを用いた研究等から、肺においては弾性線維形成に関与することが知られている。

LTBP2 の線維化における意義は不明であるが、本研究の結果から、線維化に際して異常分化した筋線維芽細胞から多量に産生・分泌されることが示唆された。また、細胞外に分泌された LTBP2 の一部は血管内へ入り込み、血清タンパク質として検出可能であること、またそのタンパク質濃度が IPF の病勢(呼吸機能や急性増悪)及び予後を反映するバイオマーカーとなり得ることが明らかとなった。今後、より多数例かつ前向きコホート試験によるバリデーションが必要である。

[結論]

LTBP2 は線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化を反映する、IPF の新規バイオマーカーとして期待される。