

# Nintedanib Inhibits Epithelial Mesenchymal Transition via TGF- $\beta$ /Smad pathway in Alveolar Epithelial Cells

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 井原, 宏彰 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002279">https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002279</a>

(所定様式⑤)

## 論文内容の要約

順天堂大学	博士 (医学)	氏名	井原宏彰
論文題目	Nintedanib Inhibits Epithelial Mesenchymal Transition via TGF- $\beta$ /Smad pathway in Alveolar Epithelial Cells. (ニンテダニブはTGF $\beta$ /Smadパスウェイを抑制することで肺胞上皮細胞の上皮間葉転換を阻害する)		

(論文内容の要約) (1000字~1500字)

【目的】特発性肺線維症 (IPF) は細胞外マトリックス蛋白 (ECM) の蓄積を特徴とし、慢性的に肺の線維化が進行する致死性疾患である。Transforming growth factor (TGF)  $\beta$  は肺線維化の過程で Smad2 のリン酸化を介して肺胞上皮細胞において上皮間葉転換 (Epithelial mesenchymal transition: EMT) を誘導し、IPF における肺線維化に寄与していることが報告されている。IPF の治療薬として、現在、ニンテダニブおよびピルフェニドンの2薬剤が臨床承認されており、これら2薬剤は違う作用機序により肺線維化を抑制していると考えられているが、詳細は明らかではない。本研究において、我々は *In vitro* における肺胞上皮細胞の TGF- $\beta$  誘導性 EMT に対するニンテダニブとピルフェニドンの抑制効果、および IPF 患者肺組織の Fibroblastic foci におけるリン酸化 Smad2 の発現とニンテダニブ、ピルフェニドンの治療効果の相関を検討した。

【方法】ヒト肺胞上皮細胞 (A549) およびヒト気道上皮細胞 (BEAS-2B) を TGF- $\beta$  2/TNF- $\alpha$  (TT) を用いて 48 時間刺激し EMT を誘導した。同時にニンテダニブまたはピルフェニドンを投与し、Microarray による網羅的遺伝子発現解析、上皮系ならびに間葉系マーカー、リン酸化 Smad2/3、FGFR1、PDGFR- $\beta$  の発現について quantitative RT-PCR あるいは Western Blot を用いて評価し、フォーカス形成能や遊走能を Focus formation assay および Wound healing assay を施行して評価した。また IPF 患者の手術検体・肺組織を用いて免疫染色を施行して Fibroblastic foci 内のリン酸化 Smad2 の発現を評価した。そしてリン酸化 Smad2 の発現率とニンテダニブおよびピルフェニドンの治療前後での KL-6 値の変化の違いを相関係数を用いて評価した。

【結果】Microarray データを用いた Gene ontology 解析によりニンテダニブは A549 の EMT 関連の Biological process を抑制した。クラスター解析において、A549 を TT のみで刺激したグループと比較して、ニンテダニブとともに TT で刺激したグループの EMT 関連遺伝子発現パターンは変化を認めた。一方、ピルフェニドンとともに A549 を TT で刺激したグループでは EMT 関連遺伝子発現パターンの変化を認めなかった。ニンテダニブは TT 刺激による A549 の細胞形態変化を抑制し、A549 および BEAS-2B の TT 刺激による上皮系マーカーの減少 (E-カドヘリン) および間葉系マーカー (N-カドヘリン、ファイブロネクチン) の増加を抑制した。さらにニンテダニブは TT 刺激による A549 のフォーカス形成と細胞遊走も抑制した。一方、ピルフェニドンではこれらの抑制効果は認められなかった。ニンテダニブは A549 の Smad2/3 および FGFR1、BEAS-2B の Smad2/3、PDGFR- $\beta$  および FGFR1 のリン酸化も抑制した。最後に IPF 患者肺組織の検討では Fibroblastic foci におけるリン酸化 Smad2 の発現は肺線維化マーカーである KL-6 の増加と正の相関を示した。またニンテダニブ治療患者においてリン酸化 Smad2 の発現はニンテダニブ治療後の KL-6 改善効果と相関していた。

【考察】以上の結果から、ニンテダニブは IPF の病態において肺胞上皮細胞の EMT を抑制し、Fibroblastic foci のリン酸化 Smad2 の発現はニンテダニブによる KL-6 改善の指標となる可能性が示唆された。