



平成 27 年 3 月 10 日

国立大学法人 群馬大学

自治医科大学

骨粗鬆症薬の吸入がマウスの COPD（慢性閉塞性肺疾患）を改善 ～ 肺疾患の新規治療法の開発に繋がる可能性 ～

研究成果のポイント

1. エラスターゼ吸入および喫煙によって誘導される COPD（慢性閉塞性肺疾患）の実験モデルマウスにおいて、骨粗鬆症薬として広く用いられているビスホスホネートを吸入させることで、肺気腫が改善することを見出しました。
2. 肺組織のフローサイトメトリー解析によって、吸入されたビスホスホネートは肺胞に常在するマクロファージおよび炎症性マクロファージに選択的に取り込まれることが明らかになりました。また、培養肺胞マクロファージを用いた検討から、ビスホスホネートは肺胞マクロファージのメバロン酸経路を抑制し、NFκB シグナルを抑制し、炎症性サイトカインの産生を抑制するとともにアポトーシスを誘導することが判明しました。一方、ビスホスホネートは、経口投与では大部分が骨へ取り込まれ、肺への分布は認められませんでした。
3. COPD の薬物治療は現在、対症療法が中心ですが、本研究成果は、ビスホスホネート吸入が COPD の病態形成の中心的な機序を標的とする新規治療法となる可能性を示すと考えられます。

国立大学法人群馬大学（高田邦昭学長）大学院医学系研究科 上野学医師、前野敏孝講師、倉林正彦教授および自治医科大学（永井 良三学長）分子病態治療研究センター 西村智教授らの研究グループは、COPD に対する治療として骨粗鬆症薬であるビスホスホネートの吸入が有効であることを見出しました。

本研究グループは、COPD の実験モデルマウスにおいて、ビスホスホネートを吸入させることで肺気腫が改善することを見出しました。

ビスホスホネートは骨組織に集積し、破骨細胞の活性を抑制することから骨粗鬆症の治療

薬として広く用いられています。本薬剤は経口や静脈注射では構造上の特徴から、肺を含めて骨以外の臓器にはほとんど移行しません。本研究グループは、ビスホスホネート水溶液をマウス気管内に吸入することで、本薬剤が特定の肺胞マクロファージに選択的に取り込まれてアポトーシスを誘導し、肺気腫を改善することを見出しました。ビスホスホネートの吸入は、エラスターゼ誘導 COPD だけでなく、喫煙による COPD モデルにおいても有効であることや低用量でも効果があることから、本研究成果は、ビスホスホネートの吸入が COPD の予防や治療の新しい手段になる可能性を示しています。

本研究成果は、Nature Publishing Group のオンライン誌 Nature Communications で 3 月 11 日に公表されます。

研究の背景 1

COPD^{*1}、間質性肺炎（肺線維症）や肺がん、呼吸器感染症、気管支喘息などの呼吸器疾患は近年増加傾向にあります。厚生労働省が行った平成 24 年人口動態統計における死因順位の結果では、肺炎が脳血管疾患を抜いて悪性新生物（がん）、心疾患に次ぐ第 3 位に入ることなどから、呼吸器疾患に対する予防や治療などの対策が急務とされております。COPD はタバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入することで生じた肺の慢性炎症性疾患であり、2013 年にはわが国の男性の死因第 8 位になっております。近年その患者数は増加してきておりますが、症状を緩和する治療のみが可能であり、根本的な治療法はまだ見つかっていません。COPD 発症の鍵となるメカニズムを標的とする新たな治療方法の開発が焦眉の課題となっております。

研究の背景 2

肺は生体の中で、大気中に存在する様々な異物に最も暴露されやすい臓器です。したがって、肺胞内には多様な免疫細胞が常在するとともに、抗原刺激によってマクロファージやリンパ球が肺外から動員され、大気中の異物に対する防御機能を持っています。COPD では肺胞マクロファージ^{*2}、好中球、CD8 陽性リンパ球が中心となり遷延する炎症が惹起されます。これらの炎症細胞はサイトカインやケモカインなどの炎症性メディエーター^{*3} を産生したり、オキシダントやプロテアーゼを放出したりすることによって異物に対する防御反応を起こしますが、これらの防御反応が過度に起こったり、遷延したりすると肺胞破壊や末梢気道の障害が引き起こされ、肺気腫が発症し息切れや慢性咳嗽や痰の症状が起こります。このように COPD の病態には免疫担当細胞が大きな役割をもちます。しかし、現在、肺胞や末梢気道において遷延する炎症を抑制する有効な治療方法はこれまでありません。

ビスホスホネート^{*4} は P-C-P 骨格を持ちヒドロキシアパタイトに対する親和性が高いことから、経口あるいは静脈により循環血液中に入った薬剤のほとんどは骨組織に結合します。

そして、骨組織内では代謝の活発な部位で破骨細胞に取り込まれ、破骨細胞のアポトーシスを誘導し、骨吸収を強力に抑制することから骨粗鬆症の治療に広く用いられています。肺胞マクロファージは破骨細胞と同じく骨髄由来の単球系細胞であり、ビスホスホネートを取り込む性質をもつと考えられますが、ビスホスホネートは経口や静注では肺組織への集積はほとんど認められません。倉林教授らの研究グループは、マウスの COPD モデルを用いて、ビスホスホネートを気管内に吸入させ、肺胞マクロファージ周囲のビスホスホネート濃度を高めることによって肺胞マクロファージがビスホスホネートを取り込み、結果として肺気腫が改善するか検討しました。

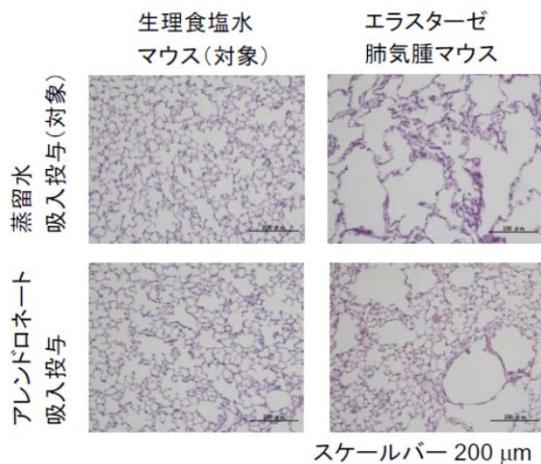


図 1 エラスターゼ肺気腫モデルマウスに対するアレンドロネートの効果
生理食塩水を投与(比較対象)した肺と比較して、エラスターゼを投与した肺気腫モデルマウスの肺では、肺胞の拡大を認める。これに対して、アレンドロネートを吸入投与したマウスの肺では、肺胞の拡大が抑えられている。
(掲載論文より改変引用)

研究の内容と成果

本研究グループは、COPD モデルであるエラスターゼ肺気腫モデルマウスや喫煙肺気腫モデルマウスを用いて、ビスホスホネートを吸入させることで、疾病発症の中心である肺胞マクロファージにアポトーシスを誘導し、遷延する炎症や気腫病変を改善する効果があることを明らかにしました。

まず、本研究では蛋白分解酵素であるエラスターゼ^{*5}をマウスの気管内に投与して、肺気腫モデルを作成し、エラスターゼ投与 7 日後および 14 日後に窒素含有のビスホスホネートであるアレンドロネートを吸入投与したところ、21 日後の解析で肺胞内の炎症細胞は減少し、気腫化が抑制されることを明らかにしました(図 1)。6 か月間の喫煙による COPD モデルでもアレンドロネート吸入投与は同様に気腫化を抑制しました。しかし、アレンドロネート吸入投与は好中球の増多を引き起こすエンドトキシン誘導肺炎には無効でした。また、アレンドロネート経口投与では気腫化の抑制は全く認められませんでした。

次に、本研究では、エラスターゼ誘導性 COPD マウスに蛍光色素を標識させたビスホスホネート(OsteoSense680)を吸入投与したところ、肺胞マクロファージに特異的に取り込まれることを示しました(図 2)。肺組織のフローサイトメトリー解析によって、OsteoSense680 を

取り込む細胞は炎症性マクロファージおよび肺胞内に常在するマクロファージであることが明らかにされました。つまり、ビスホスホネートは特定の肺胞マクロファージに作用して COPD に伴う肺胞構造の破壊を抑制することが明らかになりました。

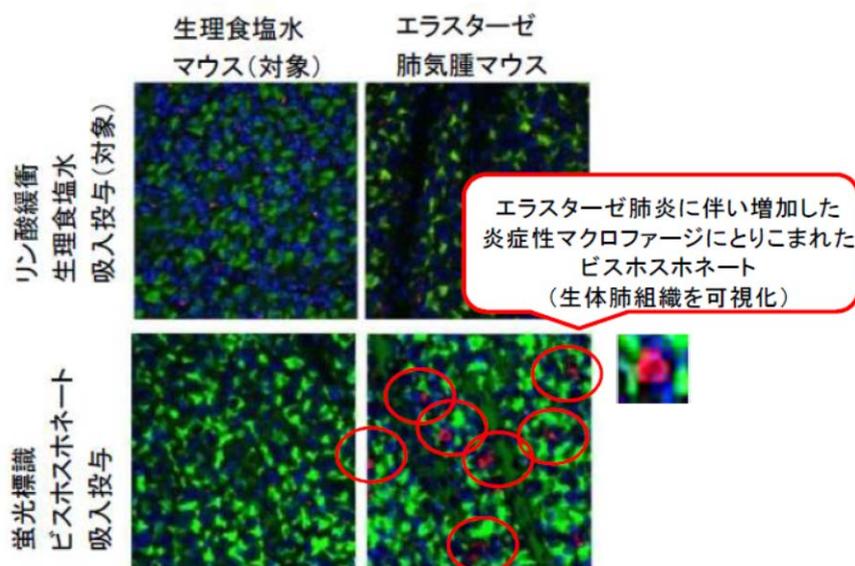


図2 エラスターゼ肺気腫モデルマウスにおける
ビスホスホネートの分布

エラスターゼ肺気腫モデルマウスの肺では、アレンドロネートの集積(赤色)が確認される。集積している細胞は肺胞マクロファージである。

(掲載論文より改変引用)

さらに、エラスターゼ誘導性 COPD マウスに対するビスホスホネートの作用メカニズムを検討したところ、ビスホスホネートは肺胞マクロファージにアポトーシス^{*6}を誘導することがわかりました。また、ビスホスホネートは、肺胞マクロファージの貪食能、遊走能および炎症性メディエーターやプロテアーゼの産生を抑えることを見出しました。

以上の結果から、エラスターゼンやタバコ煙によって発症した COPD に対してビスホスホネートを吸入投与すると、選択的に肺胞マクロファージのアポトーシスを誘導し、炎症性メディエーターの産生を抑え、肺胞破壊と気道炎症が改善することが示されました (図3)。

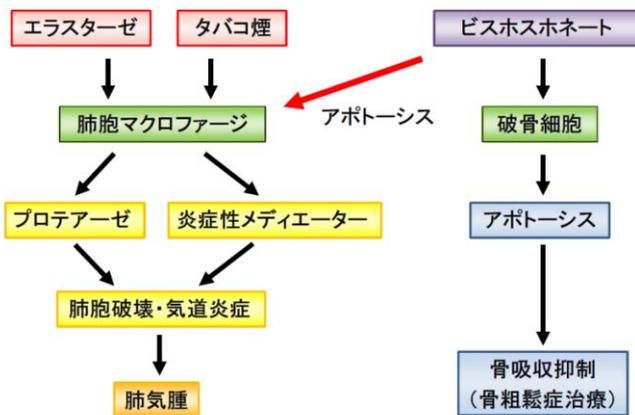


図3 今回の研究で認められたCOPDに対するビスホスホネートの作用について

社会的意義とこれからの展望

現在、臨床では喫煙を中心とする有害物質の吸入によって発症するCOPDに対して、気管支拡張薬による対症療法が薬物治療の中心で、気腫化を抑制する治療法はありません。本研究成果は、ビスホスホネートの吸入が肺胞構造の破壊を抑制し得ることを示しており、COPDの病態を改善させる新しい治療法になる可能性が期待されます。今後は副作用や投与方法などを含めた臨床応用を目的とした臨床研究にて有効性と安全性を検討する必要があります。さらに、本研究ではビスホスホネートが活性化した肺胞マクロファージに特異的に作用する点から、今後は肺胞マクロファージが病態の中心となるCOPD以外の呼吸器疾患に対してもビスホスホネート吸入療法を応用できる可能性があるかと期待できます。

用語解説

* 1 COPD

COPDはタバコ煙を中心とする有害物質の長期吸入により生じた肺の炎症性疾患である。進行性で不可逆性の気流閉塞をもたらす、労作時呼吸困難や慢性の咳、痰を特徴とする。肺気腫や慢性気管支炎を呈する。COPDの病態は、肺胞・気道内でマクロファージ・好中球・リンパ球(CD8)が相補的に炎症をもたらす、炎症性メディエーター(サイトカイン・ケモカイン)の産生、オキシダント・プロテアーゼが放出され、肺胞破壊や末梢気管支の傷害が惹起され、肺気腫に至る。

* 2 マクロファージ

マクロファージは生体内で遊走している食細胞であり、死んだ細胞や細菌などの異物を捕食して消化する。また、抗原提示作用を有し、免疫機能を担う。これらの作用により炎症反応が強くなる。マクロファージはサイトカインが作用して活性化し、様々な機能を有するようになる。活性化マクロファージの分類は、古典的活性化マクロファージ(M1)と選択的活性化マクロファージ(M2)に2分される。

* 3 炎症性メディエーター

炎症性メディエーターは損傷した組織や炎症部位に浸潤した炎症細胞から放出される生理活性物質であり、血管透過性亢進、白血球の遊走・浸潤、組織破壊を引き起こす。サイトカインやケモカイン、オキシダントなどが代表である。

* 4 ビスホスホネート製剤

ビスホスホネート製剤は破骨細胞の活動を阻害し、骨の吸収を防ぐ作用を有する。P-C-P構造を基本骨格とし、2個のホスホン酸アニオン基が炭素と共有結合している。窒素を含まないもの（第一世代）と含むもの（第二、三世代）で作用が異なる。アレンドロネートをはじめとする、窒素を含むビスホスホネートは破骨細胞におけるメバロン酸経路を遮断することで、破骨細胞の形成・生存・細胞骨格に影響を与える。

* 5 エラスターゼ

エラスターゼはタンパク質を分解するプロテアーゼの一つで、主として弾性繊維のエラスチンを分解する。COPDではプロテアーゼが過剰に産生され、肺の弾性繊維を破壊し、肺気腫を形成している。エラスターゼをマウスに投与すると肺気腫が誘導されマウスやラットなどの実験動物の気管内にエラスターゼを投与すると、肺胞マクロファージを含む炎症細胞の増加、肺の気腫化をきたすことから、肺気腫モデルの作成に用いられる。

* 6 アポトーシス

プログラムされた細胞死のことをいい、様々な要因により生じた不要な細胞や傷害を受けた細胞を能動的に除去するために引き起こされる細胞死のことをいう。生物の発生の過程や老化などの現象において、なくてはならないものである反面、がんや動脈硬化、エイズの発症など、様々な病気に関わることが知られている。

掲載論文

“Alendronate inhalation ameliorates elastase-induced pulmonary emphysema in mice by induction of apoptosis of alveolar macrophages”

論文題名（和訳）：アレンドロネート吸入は肺胞マクロファージにアポトーシスを誘導することでエラスターゼ誘導肺気腫を改善する

著者：上野 学、前野 敏孝、西村 智、緒方 英、増渕 裕朗、原 健一郎、山口 公一、青木 史暁、須賀 達夫、永井 良三、倉林 正彦

公開日： Nature Communications, 2015年3月11日（水） 1:00（日本時間）

本件に関するお問い合わせ先：

(研究について)

群馬大学大学院医学系研究科 臓器病態内科

教授 倉林 正彦

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町 3-39-15

自治医科大学分子病態治療研究センター 分子病態研究部

教授 西村 智

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

(取材対応窓口)

群馬大学昭和地区事務部総務課

広報係長 池守善洋

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町 3-39-22

Tel: 027-220-7895, Fax: 027-220-7720

E-mail: m-koho@jimu.gunma-u.ac.jp

自治医科大学 研究支援課

研究支援係長 飯村久恵

〒329-0853 栃木県下野市薬師寺 3311-1

Tel:0285-58-7550 , Fax:0285-40-8303

E-mail: shien@jichi.ac.jp