

# Leflunomide による肺線維化における Epithelial-Mesenchymal Transition 誘導の役割

分子機能薬学専攻 創薬化学講座 薬学微生物学分野 難波卓司

薬剤性肺線維症は重篤な薬の副作用であるが、その治療法は確立されておらず、薬物治療を行う上で大きな問題になっている。これまでに、抗癌剤や抗リウマチ薬など約 350 種類以上の薬が肺線維症を引き起こすことが報告されているが、その発症機構は不明である。また動物モデルも確立されていない。肺線維症の動物モデルとしては bleomycin 誘導性の肺線維症モデルが知れているが、ヒトの肺線維化の特徴の一部しか模倣できていない。このようなことから、薬剤性肺線維症の発症機構の解明、及び有用な動物モデルの確立は、治療薬の開発のみでなく、新薬の副作用予測などを行えるアッセイシステムの確立にもつながり、非常に重要である。

これまでに肺線維症において、コラーゲンなどの細胞外マトリックスを産生する筋線維芽細胞と線維化を促進するサイトカインである TGF- $\beta$ 1 が重要であることが分かってきた。最近、肺胞上皮 II 型細胞が上皮間葉移行(Epithelial-mesenchymal transition: EMT)により筋線維芽細胞に形質転換することが、肺線維症の発症と悪化に重要な役割を果たしていることが報告された。

そこで私は、薬剤性肺線維症を引き起こすことが知られている薬について、*in vitro* で EMT を誘導するかを検討した。その結果、抗リウマチ薬の leflunomide 代謝活性化体である A771726 が EMT を誘導することを見出した。A771726 は uridine 合成に重要な dihydroorotate dehydrogenase (DHODH)を阻害することで免疫細胞の増殖を抑制し、抗リウマチ作用を示すことが知られている。まず、A771726 による EMT の誘導機構について検討した。その結果、A771726 は TGF- $\beta$ 1 の発現及び、TGF- $\beta$ 1 経路に影響を与えず、Notch 経路の活性化を介して、SIP1 (EMT を誘導する転写因子) を誘導し、EMT を誘導することを示唆した。さらに A771726 による EMT の誘導は、uridine を添加することで抑制されること、及び DHODH 阻害活性の無い A771726 誘導体では起こらないことから、抗リウマチ作用同様、DHODH

阻害を介していることが考えられた。次に動物モデルの確立のため、*in vivo* で肺線維化における leflunomide の効果を検討した。leflunomide の単独投与では肺線維化を起こさなかった。そこで、leflunomide 投与前から肺傷害を有する患者は、高頻度で肺線維症を発症したことが報告されていたことから、bleomycin により弱い肺傷害を作製した後に leflunomide を投与したところ、肺での EMT が促進され、線維化も悪化した。このモデルに uridine を投与すると、leflunomide による EMT の促進、及び線維化の悪化が抑制された。これらの結果から leflunomide は、肺傷害時に EMT の誘導を促進することで、肺線維化を悪化させることが示唆された。

以上本研究をまとめると、leflunomide は肺胞上皮細胞において、DHODH 阻害を介して EMT を誘導することで、肺線維化を増悪していることを示唆した。これにより、薬剤性肺線維症の発症機構の一つに、薬剤による EMT の誘導が関与していることが考えられる。そこで、新薬の EMT 誘導能、及び肺線維症の悪化について、本研究で用いた *in vitro* におけるアッセイ、及び動物モデルを用いて解析を行うことで、事前に肺線維症の副作用を起こす可能性のある薬の一部を予測できるのではないかと考えている。