

【要約】

Peptidylarginine deiminase 4 inhibition ameliorates
bleomycin-induced Neutrophil extracellular traps
(NETs) and fibrosis in the lungs of mice

(PAD4 阻害はマウス肺のブレオマイシン誘導
NETs と線維化を改善させる)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：巽 浩一郎 教授)

鈴木 優毅

【目的】

特発性肺線維症は不可逆進行性の肺線維化を特徴とする、原因不明の予後不良疾患である。肺線維化機序には免疫細胞、とくに好中球が関与することが知られており、気管支肺胞洗浄液（BALF）中の好中球増多は予後不良因子である。近年、好中球機能の一つとして Neutrophil extracellular traps（NETs）が報告された。NETs は DNA と細胞内蛋白の混合物を細胞外へ放出する現象で、Peptidylarginine deiminase-4（PAD4）酵素は NETs 発現に重要な役割を持つ。生理的には NETs は感染防御機能を担うが、過剰な NETs は急性肺障害や臓器線維化に関与する。NETs の肺線維化における役割は不明であり、本研究ではブレオマイシン（BLM）誘導マウス肺線維症モデルを用いて、肺線維化における NETs の役割を検証した。

【方法】

野生型（WT）マウスに BLM を投与し、投与後 day 2、7、21 日目の BALF・肺組織中の NETs 発現を評価した。同発現が PAD 阻害剤により改善するか評価した。WT マウス好中球を BLM で刺激し、PAD 阻害剤存在・非存在下で NETs の発現を評価した。次に、WT および *Padi4* 遺伝子欠損（PAD4-KO）マウスを用いて、BLM 気管内投与後の BALF・肺組織中の NETs の発

現、肺構成細胞プロファイル、肺線維化を評価した。また、*Padi4* 遺伝子は全身臓器に微量に発現しており、血球系細胞に発現する PAD4 の肺線維化への寄与を評価するため、PAD4-KO 血球系細胞置換マウスを作成し、BLM 投与後の肺線維化を評価した。

【結果と考察】

BLM 投与後、WT マウスでは BALF・肺組織中 NETs は day 2 に発現が亢進し、day 7・21 にかけて減少した。*In vitro* で WT マウス好中球を BLM で刺激すると NETs が誘導され、PAD 阻害薬によって、*in vivo*、*in vitro* で BLM 誘導 NETs は抑制され、BLM 誘導 NETs の発現に PAD の関与が示唆された。

BLM 投与 PAD4-KO マウスでは、WT マウスに比し day 2 の BALF・肺組織中の NETs 発現は減少し、また day 14 の肺胞上皮・血管内皮細胞の減少、筋線維芽細胞の増加は抑制された。Day 21 の肺線維化スコア・コラーゲン蓄積は顕著に改善した。PAD4-KO 血球系細胞置換マウスではコントロール群に比較して、BLM 気管内投与後の肺線維化は改善した。以上から、PAD4 阻害は BLM 誘導性 NETs と肺線維化を抑制し、肺線維化抑制には血球系細胞に存在する PAD4 が重要であると考えられた。

【結論】

PAD4 依存性 NETs は BLM 誘導性肺線維症を促進する。PAD4 を介する NETs の制御は、肺線維症に対する新たな治療戦略になる可能性がある。