

論 文 内 容 要 旨

Intestinal overgrowth of *Candida albicans*
exacerbates bleomycin-induced pulmonary fibrosis
in mice with dysbiosis

(腸内 *Candida albicans* の増殖は
マウスブレオマイシン肺線維症を悪化させる)

The Journal of Pathology, in press.

主指導教員：服部 登 教授

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：藤高 一慶 講師

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：中島 歩 共同研究講座 教授

(医系科学研究科 幹細胞応用医科学)

山田 貴弘

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

1. 背景

肺線維症は生命予後不良な呼吸器疾患のひとつであるが、その病態には不明な部分が多く有効な治療法の開発が求められている。近年、宿主の微生物叢と様々な臓器の疾患との相互作用について多くのエビデンスが蓄積されており、微生物叢は難治性疾患に対する新たな治療ターゲットとして期待されている。しかしながら、肺線維症と腸内微生物叢、特に腸内真菌叢との関係は明らかでない。

我々は、肺線維症を悪化させる因子である Th17 や M2 マクロファージとの関連が報告されている常在真菌のひとつである *Candida albicans* (*C. albicans*) に注目して、腸内真菌叢の変化が肺線維症の病態に及ぼす影響について、マウスを用いて検討した。

2. 方法

腸内 *C. albicans* を増殖させるために、腸内細菌叢を破壊する抗菌薬と *C. albicans* を自由飲水で経口投与させたマウスを作成した。対照群として、抗菌薬および内因性の *C. albicans* を除去するための抗真菌薬を経口投与させたマウスを作成した。それぞれのマウスにブレオマイシンを経気道投与して肺線維症を誘導し、day14 に sacrifice して比較を行った。

3. 結果

抗菌薬と *C. albicans* を経口投与して腸内 *C. albicans* を増殖させたマウスは、*C. albicans* を投与していない対照群のマウスと比較して、肺線維症が増強した。さらに、腸内 *C. albicans* 増殖マウスでは Th17 免疫反応が亢進しており、これらのマウスに IL-17A の中和抗体を投与すると肺線維症が減弱したことから、腸内 *C. albicans* 増殖による肺線維症の悪化には IL-17A が寄与していると考えられた。この IL-17A 産生細胞はブレオマイシン投与前の肺や血液中では増加していなかった。しかし Th17 のマスターレギュレーターである ROR γ t (*Rorc*) に注目したところ、腸内 *C. albicans* 増殖マウスではブレオマイシン投与前から腸および肺において *Rorc* 発現が亢進したリンパ球が出現していることが示された。このことから、腸内で *C. albicans* が増殖すると *Rorc* 発現が亢進した Th17 への分化傾向を示すリンパ球が肺を含む他臓器に循環するようになり、ブレオマイシンの刺激が加わることでこれらのリンパ球が IL-17A を産生するようになると考えられた。さらに IL-17A が肺線維症を悪化させる機序についても調べた。腸内 *C. albicans* 増殖マウスの肺では内皮障害および内皮間葉転換が対照群よりも強く起こっていた。IL-17A の内皮に対する作用はこれまでに報告されていないため、*in vitro* の実験を追加した。結果として内皮細胞株に IL-17A を添加すると内皮間葉転換が誘導されることが、PCR、フローサイトメトリー、免疫細胞染色といった複数の手法で示された。

4. 考察

本研究において、抗菌薬で腸内微生物叢が乱れた状態で腸内 *C. albicans* が増殖すると肺線維症が悪化することが示された。これは Th17 が肺に誘導され、それらの細胞が IL-

IL-17A を産生することによって引き起こされた。この反応は 2 つの段階によって制御されており、まず *C. albicans* が腸で増えると *Rorc* を発現した「Th17 への分化傾向を示すリンパ球」が遠隔臓器でもみられるようになり、次にブレオマイシンのような刺激が加わると局所でこれらの細胞が活性化して Th17 へと分化を遂げ IL-17A を産生する機序が考えられた。さらに IL-17A がこれまでに報告されている上皮間葉転換や線維芽細胞の活性化のみならず、内皮間葉転換を誘導して線維化を悪化させることを初めて明らかとした。本研究は、腸内真菌叢への介入は肺線維症の治療標的となりうることを示した点で重要である。