

平成27年度 学内研究助成金 研究報告書

研 究 種 目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研 究 課 題 名	接着分子に着目した慢性変性疾患発症機序の解析と創薬シーズの探索	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 病理学 教授 伊藤 彰彦 共同研究者：医学部 腎臓内科 教授 有馬 秀二 医学部 腫瘍内科 教授 田村 孝雄	

1. 研究目的・内容

IgCAM 型の接着分子 CADM1 は細胞膜近傍の細胞外領域で酵素的切断 shedding を受ける。細胞に残る shedding 産物 α CTF は細胞のアポトーシス誘導に働く。本研究の第一の目的は CADM1 発現細胞の病的変性にこの shedding 現象が関与していないか調べることである。対象となる疾患は、肺気腫、間質性肺炎、慢性腎臓病、2 型糖尿病、イレウス性腸神経変性、緑内障等である。

2. 研究経過及び成果

- CADM1 shedding の定量化：細胞外断片を検出する ELISA の開発
CADM1 shedding によって C 末断片 (CTF) と N 末断片 (NTF) が産生される。CTF は細胞内に残り、NTF は細胞外へ放出されるので、細胞からの蛋白抽出による通常のウェスタン法では CTF は検出可能だが、NTF は検出できない。肺上皮や尿細管上皮での CADM1 shedding は気道中や尿中に NTF を放出すると考えられるので、この NTF を検出する ELISA の開発を試みた。研究代表者は過去に CADM1 細胞外領域を認識する単クローン抗体を 2 種類作出済みであるので、それらを用いたサンドイッチ ELISA を樹立した。尿中 NTF の検出下限濃度は 1~2 ng/ml 程度であり、健常時の尿中 NTF 濃度は丁度この検出下限程度であった。
- CADM1 shedding 最終産物 ICD の肺気腫発症への寄与
肺気腫では肺上皮で CADM1 shedding が亢進しており、産生された CTF がミトコンドリアに蓄積して上皮のアポトーシスを誘導している (Mimae, Ito et al, Thorax 2014)。肺気腫の肺上皮では CTF はさらに切断されて 51 アミノ酸長の細胞内断片 (ICD) が産生されていることを見出した。合成した ICD は肺上皮細胞株 (NCI-H441, RLE-6TN) においてミトコンドリアに局在し、アポトーシスを促進することがわかった (Hagiyama, Ito et al, J Biomed Sci 2015)。
- 特発性間質性肺炎における CADM1 shedding の亢進とアポトーシスへの関与
特発性間質性肺炎 (IIP) では間質を主座とする炎症性病変形成が特徴とされるが、上皮には変性・アポトーシスが生じる。剖検組織のウェスタン法により特発性間質性肺炎の上皮では、特に非特異的亜型 (NSIP) において CADM1 shedding が亢進していることを見出した。その亢進の程度は上皮のアポトーシスとよく相関していた。肺気腫と特発性間質性肺炎で見られる肺上皮の変性・アポトーシスには CADM1 の shedding 亢進という両疾患に共通する分子機序の存在が示唆された (Yoneshige, Ito et al, Resp Res 2015)。
- 病的内圧上昇を再現する水圧負荷培養装置の作出
神経変性は圧負荷によって惹起されることが知られている。疾患としては、眼圧上昇による緑内障、脳室内圧上昇による水頭症が挙げられる。陽圧換気に伴う気道内圧上昇時には肺胞上皮が変性に陥ることが知られており、種々の上皮も圧負荷に対して神経と同じような応答する可能性がある。興味深いことに、これらの疾患や病態において神経変性・上皮変性を惹起する内圧上昇には共通する閾値があり、大よそ 0.02~0.03 気圧 (約 20~30 cmH₂O) 程度であり、日常感覚からすると非常に軽微な圧である。研究代表者は通常の 6 ウェルプレートの 2-chamber 培養系を用い、その半透膜付き培養インサートに細長いシリンダーを垂直に連結することにより、半透膜上の細胞に 10~50 cmH₂O (培養液水柱) の圧を負荷できる培養系を作製した (特許出願中)。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

1. タバコ煙暴露による肺気腫マウスモデルにおける CADM1 shedding の評価：マウスにタバコ煙暴露（受動喫煙に相当）を連日行くと数週間で肺には気腫状の変化が現れることがわかった。本モデルにおいて CADM1 shedding が亢進しているかを検討し、shedding の程度と気腫状変化との相関性を解析する。
2. 圧負荷による神経変性の分子機序解析：水圧負荷培養系を用いて、神経変性を惹起する圧負荷の閾値を見出すとともに、変性に関わる機序を解析する。
3. イレウス性腸神経変性の解析：大腸癌が閉塞機転となると、その口側の大腸は内圧上昇の結果拡張する。そのような手術検体を用いて、腸神経変性の実態を明らかにし、変性に関わる機序を解析する。

4. 成果の発表等

発 表 機 関 名	種類（著書・雑誌・口頭）	発表年月日(予定を含む)
Respiratory Research	雑誌	2015.8.1
Journal of Biomedical Science	雑誌	2015.8.15
Frontiers in Cell and Developmental Biology	雑誌	2015.11.20