

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19451

研究課題名(和文)肺線維症におけるアディポネクチンの線維化制御機構解明と治療法開発

研究課題名(英文)Role of adiponectin in the pathogenesis of pulmonary fibrosis

研究代表者

玄山 宗到(Kuroyama, Muneyoshi)

大阪大学・医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：50770830

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文): 脂肪細胞から分泌されるアディポネクチン(APN)は、動脈硬化、糖尿病、心筋梗塞など種々の疾患において重要な役割をするものと注目されている。我々はAPNの抗炎症作用、血管保護作用やに着目し、APN KOマウスを解析することで、肺胞構造の破壊や全身炎症性変化などヒト類似のCOPD病態を呈することを発見した。

特発性肺線維症(IPF)は胞隔炎として始まり、慢性炎症による肺胞領域の破壊を伴って間質の線維化へと進行する予後不良の難病である。APNの多様な作用と予備実験から、本研究では、ブレオマイシン肺臓炎におけるAPNの関与について検討を加えた。

研究成果の概要(英文): Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a fatal age-associated disease that is characterized by progressive and irreversible scarring of the lung. However, the pathogenesis of IPF is not completely understood and current therapies are limited to those that reduce the rate of functional decline in patients with mild-to-moderate disease. Accumulating evidence suggests adiponectin (APN) may be a promising therapy against fibrotic diseases. Here, we determine whether APN protects against pulmonary fibrosis in bleomycin-induced mice

研究分野：呼吸器内科

キーワード：アディポネクチン 肺線維症 肺気腫

1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症(IPF)は胞隔炎として始まり、慢性炎症による肺胞領域の破壊を伴って間質の線維化へと進行する予後不良の難病である。近年肺気腫と肺線維症には、老化や喫煙以外に共通の病態(分子)が関与し、肺気腫合併線維症(CPFE)という疾患概念も提唱されている。当教室では、アディポネクチン(Adiponectin: 以下 APN)の持つ多様な機能(炎症抑制、アポトーシス抑制)に着目して、APN KO マウスが加齢と共に肺気腫や全身性炎症などヒト COPD に類似病変を呈することを示した(AJRCCM 2011)。脂肪細胞から分泌されるサイトカイン:アディポネクチン(APN)は、動脈硬化、糖尿病、心筋梗塞など種々の疾患において重要な役割をするものと注目されている。興味深いことに APN KO マウスは、高カロリー食により糖尿病や動脈硬化をきたすことから、メタボリックシンドロームの鍵分子であることが共同研究者の前田・下村らにより示された(Maeda et al. Nat Med. 2002)。しかし無刺激における表現型の報告はなく、肺における APN の役割も不明であった。そこで我々は APN の抗炎症作用、血管保護作用や喫煙による APN の低下作用に着目し、APN KO マウスを解析した。驚いたことに、無刺激下で加齢とともに肺胞構造の破壊や全身炎症性変化(CRP 増加)などヒト類似の COPD 病態を呈することを見出した(Nakanishi and Takeda et al. AJRCCM 2011)。

APN KO マウスでは、APN の持つ血管保護作用が低下することで肺構造が維持できなくなり COPD に至ることも解明した。さらに APN KO マウスに APN を組み込んだ Adenovirus の投与が肺気腫の治療に有用であることを示した。加齢とともに進行性の肺気腫だけでなく、全身性炎症、骨粗鬆症、体重減少、筋肉萎縮を合併する APN KO マウスは、全身性疾患としての COPD に合致する新たな COPD モデ

ル動物と考えられた。心血管疾患や糖尿病などの生活習慣病に低 APN 血症が関与することは知られていたが、肺の生活習慣病:COPD 発症に関与することを初めて明らかにした。

近年、肺気腫と肺線維症が合併する肺気腫合併線維症(CPFE)という疾患概念が提唱された。COPD と肺線維症には、喫煙、老化やその他の共通する危険因子が存在することが示唆されているものの、病態における共通・相違分子についての解析はほとんどされていない。当科にて作成された CD9/CD81 DKO マウス(肺気腫モデル)と CD151 KO マウス(肺線維症)の DNA Microarray の比較解析から両群に共通する遺伝子群に APN を見出した。このことから、APN が肺気腫のみならず、肺線維症にも関与することが示唆された。申請者の予備実験により、APN KO マウス肺の DNA アレイにより、線維化に関わるパスウェイが増加しているだけでなく、炎症や酸化ストレス亢進を見出した。(未発表データ)。

以上、当教室にて見出された予備実験結果と既報をもとに、肺と脂肪細胞という意外な関係(臓器連関)を結ぶ善玉アディポカイン: APN が、COPD のみならず、肺線維症においても病態形成や治療に応用すると仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、APN KO マウスにおける肺線維症の関与について検討する。

3. 研究の方法

WT mice と KO mice に Bleomycin (BLM) を経気道投与して線維化や炎症を比較する。生化学的(hydroxyproline)、組織学的(MetaMorph 画像解析システム)、生理学的(Biosystem for Maneuver Plethysmograph)に解析する。本実験では、8週令前後の肺気腫の軽微な APN KO マウスを用いるが、形態変化のない

APN(+/-)マウスや APN transgenic mouse 作成も検討する。炎症比較のために BAL 解析に加えて、cytokine を BioPlex Array System により網羅的に解析する。

4.

マウスを用いるが、形態変化のない APN(+/-)マウスや APN transgenic mouse 作成も検討する。炎症比較のために BAL 解析に加えて、cytokine を BioPlex Array System により網羅的に解析する。

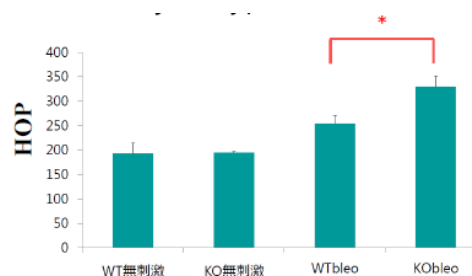
5. 研究成果

①CD151 KOマウス肺 (肺線維症モデル)

と、肺気腫になりやすいCD9 KOマウス肺についてDNAマイクロアレイを対比解析した。Ingenuity Pathway解析によると、テトラスパニンCD9とCD151 KOマウス肺において、ともに癌がトップにランクされた。表現型に矛盾することなく、CD151 KOマウスでは線維化関連遺伝子が上位にランクされ、Heat mapに示すように多くのcollagenが、CD151 KOマウス肺において著明な増加を示した。一方CD9 KOマウス肺においては、種々の炎症関連遺伝子の増加を認めるものの、線維化関連遺伝子の増加を認めなかった。肺気腫になりやすいCD9 KOマウスと、肺線維症になりやすいCD151 KOマウスにおける遺伝子発現の差異を比較すると、共通して増加する遺伝子を71種類、減少する遺伝子を128種類認めた。共通して増加する分子にAPNが含まれたことから、APNは肺気腫だけでなく、肺線維症の病態へも関与することが示唆された。また、CD9 KOマウスとCD151 KOマウスで逆方向 (CD9増加/CD151低下、もしくはCD9低下/CD151増加)に動く10種類の遺伝子を同定した(論文投稿中)。本解析から、肺気腫と肺線維症に関与する分子の共通点と相違点をテトラスパニンという膜タンパクの観点から明らかにできた。

②

さらに、APN KO マウスにおける BLM 誘導性肺線維症モデルは、WT より強い線維化を示した (ハイドロキシプロリン HOP 定量、下図)。すなわち、APN の抗線維化作用が示唆されたため、メカニズムを検討中である (論文投稿準備中)。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (4 件)

1. Double deletion of tetraspanins CD9 and CD81 in mice leads to a syndrome resembling accelerated aging. Jin Y, Takeda Y, Kondo Y, Tripathi LP, Kang S, Takeshita H, Kuhara H, Maeda Y, Higashiguchi M, Miyake K, Morimura O, Koba T, Hayama Y, Koyama S, Nakanishi K, Iwasaki T, Tetsumoto S, Tsujino K, Kuroyama M, Iwahori K, Hirata H, Takimoto T, Suzuki M, Nagatomo I, Sugimoto K, Fujii Y, Kida H, Mizuguchi K, Ito M, Kijima T, Rakugi H, Mekada E, Tachibana I, Kumanogoh A. Sci Rep. 2018 Mar 23;8(1):5145.
2. COPD と慢性炎症, 玄山 宗到, 武田吉人 最新医学. 2016 ; 71(11)
3. COPD における慢性炎症 玄山宗到、平田陽彦、武田吉人 呼吸と循環 Vol64, No2, 137-143, 2016
4. COPD とアディポネクチン 中西香織 玄山 宗到 武田吉人 Respiratory Trends Vol6, No1, 12-17, 2016

[学会発表] (7 件)

1. 武田吉人、木庭太郎、葉山善友、玄山宗到、滝本宜之、木田博、熊ノ郷淳、白水崇、朝長毅 Discovery of novel COPD biomarker from peripheral exosomes by Quantitative proteomics 呼吸器学会総会 2017. 4. 20 東京国際フォーラム
2. 玄山宗到、武田吉人、葉山善友、滝本宜之、木島貴志、熊ノ郷 淳、植田幸嗣 エクソソームの最新プロテオミクスによる COPD・喘息の新規バイオマーカー探索 呼吸器学会総会 2017. 4. 20 東京国際フォーラム
3. 滝本 宜之、武田 吉人、白水 崇、平田 陽彦、玄山 宗到、木田 博、木島 貴志、朝長 毅、熊ノ郷 淳 プロテオミクスによる肺リンパ脈管筋腫症の新規バイオマーカーの探索 呼吸器学会総会 2017. 4. 20 東京国際フォーラム
4. 玄山宗到、武田吉人、葉山善友、滝本宜之、木島貴志、熊ノ郷 淳、植田幸嗣 エクソソームの最新プロテオミクスによる COPD・喘息の新規バイオマーカー探索 第3回骨免疫学会、6月27日 石垣島
5. 木庭太郎、武田吉人、葉山善友、玄山宗到、滝本宜之、木田博、熊ノ郷淳、白水崇、朝長毅 エクソソームの最新プロテオミクスによる新規 COPD バイオマーカーの探索 第3回骨免疫学会、6月27日 石垣島
6. 武田 吉人・玄山 宗到・木庭 太郎・滝本 宜之・木田 博・植田 幸嗣・熊ノ郷 淳、エクソソームの最新プロテオミクスによる喘息の新規バイオマーカー探索 第15回日本プロテオーム学会 2017/7/27
7. 木庭太郎、武田吉人、葉山善友、玄山宗到、滝本宜之、木田博、熊ノ郷淳、白水崇、朝長毅エクソソームの最新プロテオミクスによる新規COPDマーカーの探索 第15回日本プロテオーム学会 2017/7/27

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.imed3.med.osaka-u.ac.jp/research/arch/r-resp04.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

玄山 宗到 (Kuroyama Muneyoshi)

大阪大学・医学系研究科・医員

研究者番号 : 50770830

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし