

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08169

研究課題名(和文) 小型プロテオグリカン OMD / PRELP の機能解析

研究課題名(英文) Analysis of small leucine-rich proteoglycan(SLRP) family

研究代表者

田中 剛 (Tanaka, Goh)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50456133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000 円

研究成果の概要(和文)：オステオモジュリン Osteomodulin(OMD)およびProline/Arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP)はsmall leucine-rich proteoglycan(SLRP)familyに属する細胞外基質たんぱく質であるが、その機能はほとんど解明されていない。本研究では、遺伝子改変マウスを用いたin vivo実験や細胞株を用いたin vitro実験により、主として肺癌や肺線維症の病態に着目しながら、これらの遺伝子の機能を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人死因の第1位は悪性新生物であり、部位別で肺癌は男性の第1位、女性の第2位である。肺癌死亡は経年的に増加しており、治療法の開発は進むものの、その対策は急務である。また、間質性肺炎、特に特発性肺線維症は、難治性の疾患である。病気の進行を抑制する抗線維化薬には一定の効果が認められるものの、一般的には慢性の経過で肺の線維化が進み、診断後の5年生存率は、20-40%とされる予後のきわめて不良な疾患である。肺線維症はその原因が特定できていないこともあり、病態の詳細な解明は、治療薬の開発のためにも喫緊の課題である。

本研究は、呼吸器疾患の病態の解明を目指すものである。

研究成果の概要(英文)：Osteomodulin(OMD) and proline/Arginine-rich end leucine-rich repeat protein (PRELP) are extracellular matrix (ECM) proteins in leucine-rich proteoglycan(SLRP)family, which functions have not been established.

In this study, their role in lung cancer and lung fibrosis was analyzed mainly using transgenic mice.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 間質性肺炎 小型プロテオグリカン

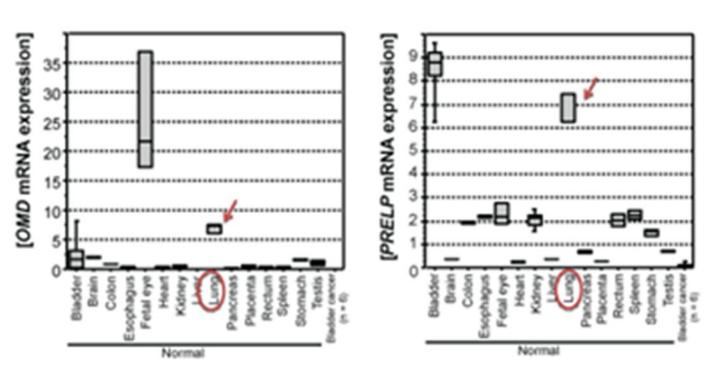
## 1. 研究開始当初の背景

Small leucine-rich proteoglycan(SLRP)は、細胞外に分泌され、細胞外マトリックスの構造や細胞の性質に関して多様な役割を担う。細胞外マトリックスの他のたんぱく質と結合する独立型と、可溶性の型が存在する。隔離型 SLRP は、コラーゲン線維と結合し、細胞外マトリックスの集合を調節するほか、成長因子などの分子を細胞外マトリックスに隔離することが知られている。可溶性 SLRP は、VEGR 受容体や FGF 受容体など様々な受容体に働きかけ、シグナルの調節を行うと報告されている (Biochimica et Biophysica Acta. 2014;1840:2460-2470)。

これまでに主として遺伝子改変動物を用いた研究により、SLRP タンパクと様々な疾患との関連が知られてきた。例えば、代表的な SLRP 蛋白である Decorin の欠損は、皮膚脆弱性、血管形成異常、肺形成不全、腸腫瘍をもたらし、Biglycan の欠損は、コラーゲン線維の異常や骨の脆弱性を引き起こす。

Osteomodulin(OMD)、Proline/Arginine-rich end leucine-rich repeat protein(PRELP)は、この SLRP family に属する細胞外基質たんぱく質である。しかしながら、これらの分子の機能に関しては、ほとんど分かっていない。近年、研究協力者らは、リコンビナント OMD 蛋白を生成することで、OMD がコラーゲン線維の形成に関与していることを示した (Biochem Biophys Res Commun. 2015;463(3):292-6)。さらに、OMD および PRELP は膀胱癌の腫瘍細胞において発現が低下しており、両者の欠損マウスでは膀胱癌が自然発症することを見出した。つまり、がん抑制遺伝子として働いている可能性が考えられる。

公開データベースを用いた解析にて、OMD および PRELP は正常肺組織にて高発現していることから、これらの遺伝子が肺の発生や各種呼吸器疾患に重要な役割を担っている可能性を考えた。



間質性肺炎、特に特発性肺線維症は、予後の不良な難治性疾患であり、その病態の解明は喫緊の課題である。線維化をきたした肺では、肺の上皮組織が細胞外マトリックスに置き換わっている。

また、2015年の日本人死因の第1位は悪性新生物であり、部位別で肺癌は男性の第1位、女性の第2位である。肺癌死亡は経年的に増加しており、その対策は急務である。OMD や PRELP と肺発生や呼吸器疾患との関連についてはこれまで報告がなく、これらの難治性呼吸器疾患の病態解明に新たな知見が得られる可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、遺伝子改変マウスなどを用いて、OMD および PRELP の主として肺における機能を解析することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### < 肺癌への関与 >

公開データベースを用いた解析にて、肺癌組織において OMD / PRELP の遺伝子の発現は低下しており、特に PRELP に関しては、非小細胞癌肺癌にて mRNA 発現量と予後との関連の可能性が示唆された。また、preliminary なデータでは、OMD/PRELP とともに正常気道上皮細胞株

では mRNA 発現がみられるものの、肺癌（腺癌、扁平上皮癌）細胞株ではほとんど発現がみられず、これまでの仮説と一致した結果であった。

まず、正常肺組織において免疫染色に用いることのできる抗体を選定する。tissue microarray により非小細胞肺癌における OMD / PRELP の発現と予後との関わりを解析する。次に、肺癌細胞株を用いた過剰発現やノックダウン実験にて、細胞増殖、アポトーシス、細胞周期、浸潤能等への影響を調べる。ヌードマウス皮下へ腫瘍細胞の埋め込みを行い、増大能も測定する。また、アレイ解析を用いて、その下流のシグナルについても探索する。特に他の SLRP における研究の類推から、チロシンキナーゼ受容体シグナルへの関与に着目する。最後に、欠損マウス肺に前癌病変などが認められるか、病理標本や結果によっては CT 検査にて詳細に検討する。自然発生的に、腫瘍の形成が見られなかった場合は、c-Myc 過剰発現マウスなどとの交配を検討する

#### < 間質性肺炎への関与 >

特発性肺線維症患者の肺組織（および健常肺）における OMD / PRELP の発現を確認する。次にこれらの欠損マウスを用いて、プレオマイシンの経気道投与にて間質性肺炎モデルを作成する。生理学的検査、病理学的検査、気管支肺胞洗浄液、ヒドロキシプロリン量測定などにより、これらの分子の間質性肺炎の病態への関与を検討する。また細胞株を用いた実験にて、上皮細胞の上皮間葉転換、線維芽細胞の増殖能や遊走能、ゲルコントラクションアッセイによる収縮能を測定する。

#### < 他臓器における関与 >

他施設との共同研究にて、膀胱、骨、皮膚、眼などの解析を行う。膀胱に関しては、細胞実験にて OMD / PRELP のがん抑制遺伝子としての働きについて解析が進んでおり、欠損マウスの膀胱の発現アレイ解析を準備している。骨に関しては、大腿骨の強度実験および病理学的検査を行う。皮膚に関しては、電子顕微鏡にてコラーゲン線維の性状を評価する。眼球に関しては、まずは病理学的検査から解析を進める。

## 4 . 研究成果

肺疾患における OMD および PRELP の関与を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	寺崎 泰弘  (Terasaki Yasuhiro)  (50332870)	日本医科大学・医学部・准教授   (32666)	
研究分担者	三谷 明久  (Mitani Akihisa)  (90739137)	東京大学・呼吸器内科学・講師   (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	ロンドン大学			