

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08651

研究課題名(和文) JCAD/KIAA1462のCOPDにおける役割の解明と治療法の開発

研究課題名(英文) The role of KIAA1462 in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

研究代表者

山本 正嗣 (Yamamoto, Masatsugu)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40542139

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)：本研究はCOPDにおけるKIAA1462の役割を明らかにすることを目的としている。まず、経気道的にKIAA1462遺伝子ノックアウト(KO)マウスにエラスターゼを投与してCOPDモデルマウスを作成したところ、気腫の程度を表す平均肺胞間距離は、KOマウスと野生型(WT)マウスで有意差を認めなかったが($p = 0.57$)。KOマウスの微小血管密度はWTマウスよりも低い傾向があった($p = 0.056$)。また、肺におけるVEGFとVEGFR-2の免疫染色における発現の違いはなかった。これらの結果は、KIAA1462がVEGFとは無関係の経路でCOPDの血管新生に関与していることを示唆していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに、COPDにおけるJCAD/KIAA1462の関与、作用機序を示す論文はなく、本研究はJCAD/KIAA1462とCOPDの直接的な関与を作用機序も含めて解析する世界で初めての研究であるとともに、肺血管と肺胞壁構造を標的とした新規治療薬の開発につながる世界で初めての研究である。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify the role of KIAA1462 in COPD. Therefore, we administered elastase to KIAA1462 gene-modified mice trans airway to create COPD model mice, evaluated the difference in emphysema by phenotype with pathological specimens, and stained with anti-CD31 antibody to evaluate the difference in angiogenesis. We performed immunohistochemistry to evaluate the expression of VEGF and VEGFR-2 in lung tissue. There was no obvious difference in the degree of emphysema due to the difference in genotype in COPD model mice (Mean linear intercept (MLI) of knock out (KO) mice ($51.0 \pm 6.13 \mu\text{m}$) vs wild type (WT) mice ($56.0 \pm 12.71 \mu\text{m}$) ($p=0.57$)), but the microvessel density of KO mice ($5.41 \pm 2.75 \text{ vessels/mm}^2$) tended to be lower than WT mice ($10.91 \pm 2.27 \text{ vessels/mm}^2$) ($p=0.056$). In addition, there was no difference in the immunohistochemical expression of VEGF and VEGFR-2. These results suggested that KIAA1462 is involved in angiogenesis in COPD by a route unrelated to VEGF.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：KIAA1462 COPD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

“ COPD ” は、厚生労働省が健康日本 21 (第二次) の中で、発症化予防、重症化予防の目標値を掲げる本邦にとっても重要な生活習慣病の一つに数えられ、2016 年の死亡者数は 15,686 人に昇り、死因別死亡数でも本邦で 10 番目に多い疾患となっている。

COPD の成因は、タバコ煙を主とする有害物質の吸入による。有害物質の吸入によって、酸化ストレスや肺における過剰なプロテアーゼが誘導され、細気管支や肺実質に慢性的な炎症を起こし、末梢気道病変 (閉塞性細気管支炎) と肺実質の破壊性病変 (肺気腫) がさまざまな割合で混在するようになり、気流制限が生じる。末梢気道壁の肥厚と肺胞の弾性収縮力低下による気道の狭窄、気流制限が COPD の主たる病態であるため、古くから COPD の治療は気管支拡張薬が用いられている。現在、長時間作用型気管支拡張薬の吸入治療が COPD 治療の主体をなし、最新のガイドラインでも推奨されている。しかし、組織破壊された気道は回復することがないため、気管支拡張を主体とする治療には限界がある。抗炎症効果を期待して、吸入ステロイドが add-on 治療として推奨された時期もあるが、気道感染症のリスク悪化や予後改善効果が認められなかったことから、現在は強く推奨される治療とは言えず、新しい治療アプローチが望まれる。

COPD の併存症として、心血管系疾患が多いことが知られており、COPD 患者の死因の第一も欧米では心血管系疾患である。喫煙など COPD と心血管系疾患のリスク因子に共通点が多いことが、その原因とされているが、一方で、血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体阻害剤の投与により肺血管内皮細胞にアポトーシスを誘導すると気腫病変が生じることが動物実験で明らかとなり (J Clin Invest, 2000) VEGF の発現が COPD 患者で減少していることも報告され (Am J Respir Crit Care Med, 2001) VEGF は肺血管内皮細胞のアポトーシスを介して肺気腫の様々な病態に関係していると推定されている (Respir Res, 2009)。また、近年ラットの喫煙誘発性 COPD モデルで血管内皮細胞の透過性の異常がみられることも報告されている (J Pathol, 2013)。また、肺血管床の減少は肺高血圧症の原因となり、肺高血圧に誘導される右心不全の併発は、COPD 患者の QOL や予後にとって重要な予測因子となるため、肺血管の増生、減少をコントロールすることは COPD 治療において極めて重要と考えられる。

近年行われた、ヒトゲノムワイド関連解析 (GWAS) の結果、KIAA1462 という遺伝子が冠動脈疾患に関連する遺伝子であることが同定され (Nat Genet, 2011) 当研究科では、これらの報告と独立して、新規の細胞間結合タンパク質として JCAD を KIAA1462 の遺伝子産物として同定することに成功し (Biochem Biophys Res Commun, 2011) KIAA1462 が血管新生に関与することを世界で初めて当研究科が報告した (Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017)。

この GWAS により KIAA1462 は冠動脈疾患以外に COPD と関係があることが報告された (Am J Respir Crit Care Med, 2017) が、JCAD/KIAA1462 系が COPD において、どのような寄与しているかは明らかにされていない。長谷川らは KIAA1462 の下流に位置する遺伝子の SVIL の遺伝子産物が、アクチン細胞骨格と細胞膜の間で高親和性結合に作用することを報告している (J Cell Sci, 2013) ことから、SVIL の遺伝子産物を介して、細胞骨格形成に関与している可能性があり、肺組織での血管形成のみならず、JCAD/KIAA1462 系が肺胞における気腫化にも関与している可能性に着目した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、血管透過性を介した気道炎症制御、血管内皮細胞のアポトーシスなどを介した血管新生や血管老化、肺気腫化における肺胞壁破壊に着目して、KIAA1462 の COPD における役割を明らかにするとともに、JCAD/KIAA1462 が COPD の新規分子標的になりうるかを検証することである。これまでの COPD の治療は、病態としての気流制限に対する薬剤を中心に開発が進められてきた。原因としての炎症に対する治療薬の効果は限定的であり、有効な分子標的治療薬も開発できていない。本研究は、最近行われた GWAS の結果、COPD との関係が明らかとなり、本研究科で同定され、世界に先駆けて機能解析を進めてきた JCAD/KIAA1462 系を解析対象としている点で学術的独自性がある。また、肺血管と肺胞壁構造が治療標的になることが証明されれば、世界で初めての COPD に対する分子標的治療薬の開発につながることを期待される。

3. 研究の方法

実験 . エラスターゼ誘導性肺気腫マウスモデルの作成と表現型の解析

申請者の施設で既に飼育している 10 週齢の KIAA1462 遺伝子野生型 (WT) マウスと KO マウスを用いて、エラスターゼを経気道的に投与して COPD モデルマウスを作成する。投与 21 日後のマウスから肺組織を摘出し、表現型に与える影響を解析する。

実験 . KIAA1462 の血管新生に与える影響の評価

実験 で作製した病理標本を用いて、血管内皮細胞マーカーである CD31 で免疫染色を行い、微小血管密度を測定し、KIAA1462 の遺伝子型が血管新生に与える影響を評価する。また、同じく実験 で作製した病理標本を用いて、VEGF の免疫染色を行い、VEGF 発現に与える影響を評価する。また、摘出肺より核酸を抽出し、qRT-PCR により VEGF と VEGFR の mRNA の発現に与える遺伝子型の影響を調べる。

4. 研究成果

COPD モデルマウスにおいて、気腫の程度を表す平均肺胞間距離は、KO マウス ($51.0 \pm 6.13 \mu\text{m}$) と野生型 (WT) マウス ($56.0 \pm 12.71 \mu\text{m}$) で有意差を認めなかった (図 1. $p = 0.57$)、

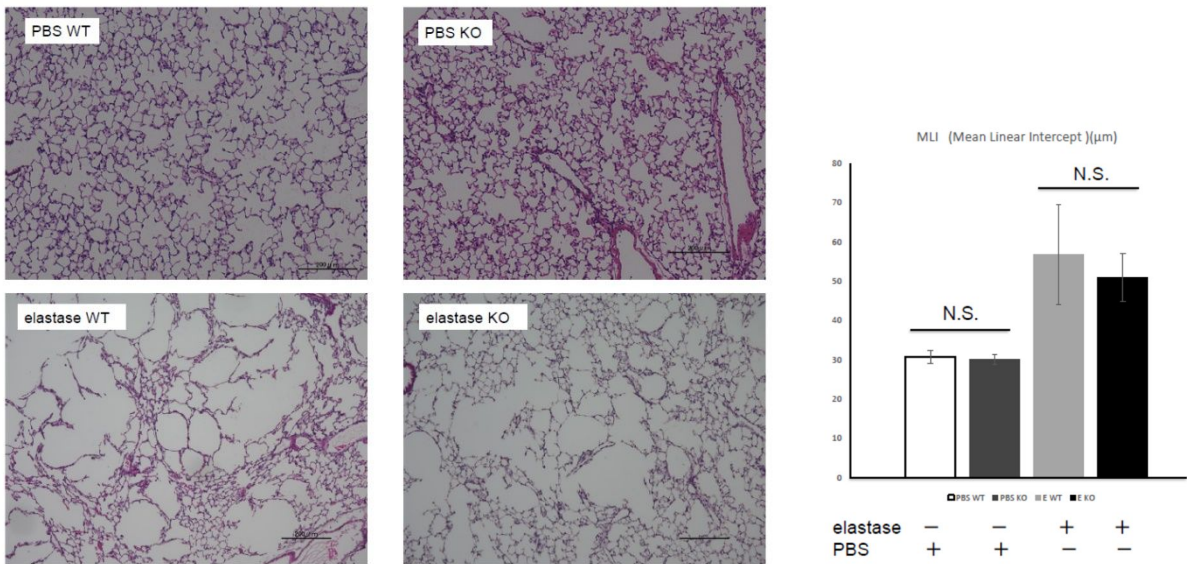


図 1. エラスターゼ投与後の病理像と平均肺胞間距離

しかし KO マウスの微小血管密度 ($5.41 \pm 2.75 \text{ vessels} / \text{mm}^2$) は WT マウス ($10.91 \pm 2.27 \text{ vessels} / \text{mm}^2$) よりも低い傾向があった (図 2. $p = 0.056$)、

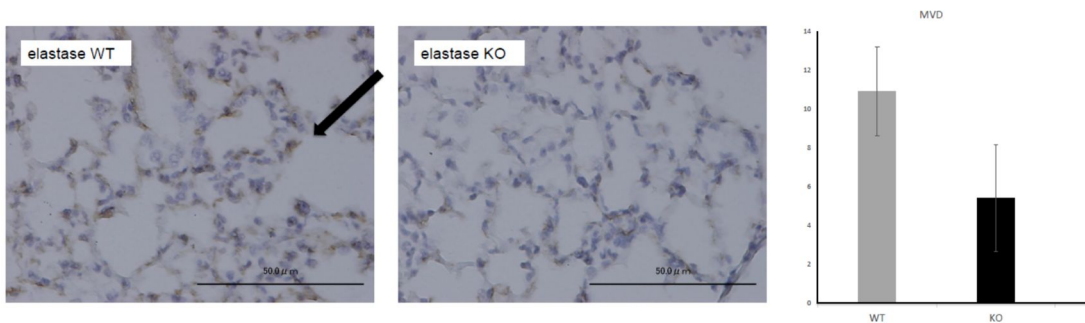


図 2. 微小血管密度 (CD31 で免疫染色)

また、肺の病理切片における VEGF と VEGFR-2 の免疫染色における発現の違いはなかった (図 3)。

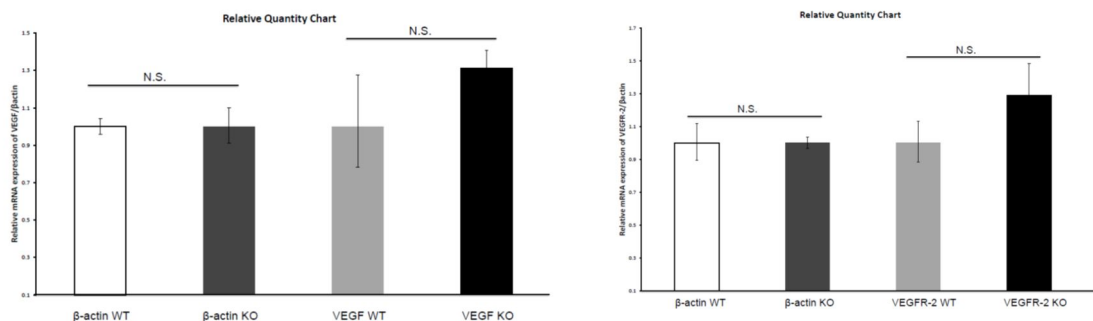


図 3. VEGF と VEGFR-2 の免疫染色像

これらの結果は、K1AA1462 が VEGF とは無関係の経路で COPD の血管新生に関与していることを示唆していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Masako Yumura, Tatsuya Nagano, Kazuyuki Kobayashi, Daisuke Hazama, Masatsugu Yamamoto, Yoshihiro Nishimura
2. 発表標題 The role of KIAA1462 in chronic obstructive pulmonary disease (COPD)
3. 学会等名 APSR2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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	西村 善博 (Nishimura Yoshihiro) (20291453)	神戸大学・医学部附属病院・名誉教授 (14501)	
研究分担者	小林 和幸 (Kobayashi Kazuyuki) (50403275)	神戸大学・医学部附属病院・特命教授 (14501)	
研究分担者	永野 達也 (Nagano Tatsuya) (80624684)	神戸大学・医学研究科・講師 (14501)	

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
---------	---------