

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590974

研究課題名（和文） 独自に開発、慢性閉塞性肺疾患発症モデルマウスを用いた疾患病態解明と治療薬の開発

研究課題名（英文） Pathogenesis and drug development using a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease

研究代表者

石神 昭人（ISHIGAMI AKIHITO）

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号：50270658

研究成果の概要（和文）：

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は喫煙が主な原因とされる肺の生活習慣病である。本研究では、ビタミンCを合成できないSMP30/GNLノックアウトマウスを用いて、ビタミンCの不足が肺に及ぼす影響並びに十分なビタミンCの摂取が喫煙によるCOPD発症リスクを下げられるか検討した。その結果、ビタミンCの不足が肺における酸化ストレスの増大や肺胞の破壊を招くことが明らかになった。また、予めビタミンCを十分に摂取すると喫煙によるCOPD発症リスクを下げられることがわかった。

研究成果の概要（英文）：

We examined the effect of vitamin C depletion in lung from vitamin C depleted SMP30/GNL knockout mice by histopathologic and morphologic evaluations. Our results suggest that vitamin C protects lungs from oxidative stress and age-related lung diseases including cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：閉塞性肺疾患、慢性閉塞性肺疾患

1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性閉塞性肺疾患（COPD）は高齢者に多い肺の生活習慣病である。世界の死亡原因の第4位にランクされ、日本でも約530万人の患者がいると推定される。しかし、その

発症機構は未解明、予防・治療薬は全く開発されていない。

(2) 我々は、1991年プロテオーム解析により、加齢に伴い肝臓や腎臓、肺で減少する

タンパク質 SMP30 (日本名: 加齢指標タンパク質 30) を発見し、老化における重要性を明らかにしてきた。SMP30 の減少は生体機能の低下をもたらし、老年病、生活習慣病の発症リスクを高める。最近、SMP30 は哺乳類におけるビタミン C 合成に必須な酵素グルコノラクトナーゼ (GNL) であり、SMP30 (GNL と同じ) 遺伝子を破壊したノックアウトマウスは体内でビタミン C を合成できないことが分かった。

2. 研究の目的

本研究は、我々が独自に開発したビタミン C を合成できない SMP30/GNL 遺伝子破壊マウスを用いて、ビタミン C 不足による COPD 発症機構の解明とその予防・治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 体内でビタミン C を合成できない SMP30/GNL ノックアウトマウスをビタミン C を全く含まない餌や飲み水で飼育し、1 ヶ月 (生後 2 ヶ月齢)、2 ヶ月 (生後 3 ヶ月齢) 後に肺の形態学的評価、そして酸化ストレスの程度を測定する。

(2) SMP30/GNL ノックアウトマウスを生後 3 ヶ月齢までビタミン C を十分に与えて飼育し、その後、①ビタミン C 不足群と②ビタミン C を十分に与える群の 2 群に分ける。さらに①②各群をタバコ煙曝露群と大気曝露群の 2 群ずつ (全部で 4 群) に分け、喫煙曝露させた後、肺の形態学的評価、酸化ストレスの程度を測定する。

4. 研究成果

(1) ビタミン C が不足した SMP30/GNL ノックアウトマウスの肺ではビタミン C 投与ノックアウトマウスや野生型マウス群に比べて平均肺壁間距離 (Im) や肺泡破壊指数 (DI) が著しく増大した。また、ビタミン C が不足した SMP30/GNL ノックアウトマウスの肺では活性酸素量も増大していた。体内でビタミン C を合成できない SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いて、ビタミン C 不足が肺における酸化ストレスの増大や肺泡径、肺泡破壊の増大を招くことが明らかになった。COPD 発症要因の 1 つは肺での酸化ストレスの増加と考えられることからビタミン C 不足は COPD 発症リスクを高めると考えられる。

(2) ビタミン C を十分に与えた群は、タバコ煙曝露により軽度の平均肺泡径の増大や肺泡の破壊を認めたが、酸化ストレスの亢進は認められなかった。一方、ビタミン C 不足群では酸化ストレスが増大し、顕著な肺泡の破壊を認めた。体内でビタミン C を合成で

きない SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いて、予めビタミン C を十分に摂取すると喫煙による COPD 発症リスクを下げられることがわかった。

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] (計 9 件)

- ① Fukui, M., Senmaru, T., Hasegawa, G., Yamazaki, M., Asano, M., Kagami, Y., Ishigami, A., Maruyama, N., Iwasa, K., Kitawaki, J., Itoh, Y., Okanoue, T., Ohta, M., Obayashi, H., Nakamura, N.: 17beta-Estradiol attenuates saturated fatty acid diet-induced liver injury in ovariectomized mice by up-regulating hepatic senescence marker protein-30. *Biochem Biophys Res Commun* 415: 252-257 (2011) (査読有)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.10.02>
- ② Amano, A., Handa, S., Aigaki, T., Shigemoto, K., Maruyama, N., Ishigami, A.: Establishment and characterization of hepatocytes from an Immortomouse/SMP30/GNL knockout mouse hybrid lacking vitamin C to study vitamin C transport. *J Biochem* 150: 671-678 (2011) (査読有)
DOI: 10.1093/jb/mvr109
- ③ Iwama, M., Shimokado, K., Maruyama, N., Ishigami, A.: Time course of vitamin C distribution and absorption after oral administration in SMP30/GNL knockout mice. *Nutrition* 27: 471-478 (2011) (査読有)
DOI:10.1016/j.nut.2010.04.010
- ④ Park, J.K., Ki, M.R., Lee, H.R., Hong, I.H., Ji, A.R., Ishigami, A., Park, S.I., Kim, J.M., Chung, H.Y., Yoo, S.E., Jeong, K.S.: Vitamin C deficiency attenuates liver

- fibrosis by way of up-regulated peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression in senescence marker protein 30 knockout mice. *Hepatology* 51: 1766-1777 (2010) (査読有)
DOI: 10.1002/hep.23499
- ⑤ Koike, K., Kondo, Y., Sekiya, M., Sato, Y., Tobino, K., Iwakami, S.I., Goto, S., Takahashi, K., Maruyama, N., Seyama, K., Ishigami, A.: Complete lack of vitamin C intake generates pulmonary emphysema in senescence marker protein-30 knockout mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 298: L784-792 (2010) (査読有)
DOI:10.1152/ajplung.00256.2009
- ⑥ Maruyama, N., Ishigami, A., Kondo, Y.: Pathophysiological significance of senescence marker protein-30. *Geriatr. Gerontol. Int.* 10 Suppl 1: S88-98 (2010) (査読有)
DOI: 10.1111/j.1447-0594.2010.00586.x
- ⑦ Handa, S., Maruyama, N. and Ishigami, A. : Over-expression of Senescence Marker Protein-30 Decreases Reactive Oxygen Species in Human Hepatic Carcinoma Hep G2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 32 1645-1648 (2009) (査読有)
<http://dx.doi.org/10.1248/bpb.32.1645>
- ⑧ Son, T.G., Park, H.R., Kim, S.J., Kim, K., Kim, MS., Ishigami, A., Handa, S., Maruyama, N. Chung, H.Y. and Lee, J. : Senescence marker protein 30 is up-regulated in kainate-induced hippocampal damage through ERK-mediated astrocytosis. *J. Neurosci. Res.* 87 2890-2897 (2009) (査読有)
DOI: 10.1002/jnr.22122
- ⑨ 小池建吾, 石神昭人, 瀬山邦明 老化肺・慢性閉塞性肺疾患(COPD)モデルマウス. *ファルマシア*. 45 1082-1086 (2009) (査読無)
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 千丸貴史、長谷川剛二、石神昭人、近藤嘉高、尾林博、岡田博史、浅野麻衣、山崎真裕、福井道明、中村直登: ビタミン C のインスリン分泌における役割: SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いての検討. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会, 札幌, 2011.5.19-21
- ② 近藤嘉高、加賀美弥生、半田節子、石神昭人、丸山直記: ビタミン C 欠乏マウスにおける活性酸素種は増加する. 第 65 回日本栄養・食糧学会, 東京, 2011.5.13-15
- ③ 岩間水輝、野田義博、清水孝彦、近藤嘉高、丸山直記、石神昭人 : Smp30/Sod1 ダブルノックアウトマウスにおける肝臓の組織学的解析. 日本ビタミン学会第 63 回大会, 広島, 2011.6.11-12
- ④ 天野晶子、角田誠、相垣敏郎、丸山直記、石神昭人 : ビタミン C 欠乏がカテコールアミン生合成系に及ぼす影響. 日本ビタミン学会第 63 回大会, 広島, 2011.6.11-12
- ⑤ 相澤真悟、千田美紀、相垣敏郎、丸山直記、石神昭人、千田俊哉 : ヒト SMP30 の X 線結晶構造解析. 第 11 回日本蛋白質科学会年会, 大阪, 2011.6.7-9
- ⑥ 石神昭人 : ビタミン C の体内動態とその酸化能力. 第 65 回日本栄養・食糧学会大会シンポジウム「微量栄養素と生体機能との相互作用」, 東京, 2011.5.14
- ⑦ 石神昭人 : 特別シンポジウム「これからの基礎老化研究を考える」. 第 34 回日本基礎老化学会大会, 東京, 2011.6.15-17
- ⑧ 石神昭人 : ビタミン C 不足と寿命との関係. 平成 23 年度「ビタミンの日」記念講演会, 日本バイオフィクター協会, 東京, 2011.12.10
- ⑨ 石神昭人 : 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) とビ

タミン C, 東京, 2010.9.9

- ⑩ 石神昭人 : SMP30/GNL 遺伝子破壊マウスを用いたビタミン C と老化、疾患研究. 第 56 回日本実験動物学会総会シンポジウムモデルマウスを用いた老化への分子遺伝学的アプローチ, 大宮, 2009.5.16

[図書] (計 1 件)

- ① 石神昭人 : ビタミン C の事典 東京堂出版 (2011) (単著)

[その他]

ホームページ等

<http://www.vit-c.jp/index.php>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石神 昭人 (ISHIGAMI AKIHITO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究副部長

研究者番号 : 50270658

(2) 研究分担者

半田 節子 (HANDA SETSUKO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・助手

研究者番号 : 30360697