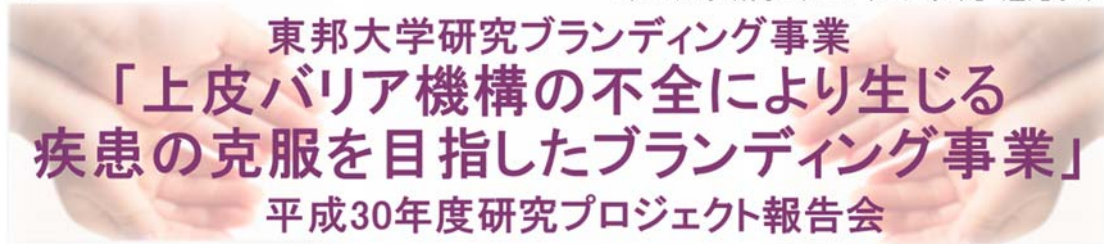




東邦大学 生命の科学で未来をつなぐ

文部科学省 平成28年度
「私立大学研究ブランディング事業」 選定事業



講演抄録集

開催日時: 平成 31 年 2 月 28 日(木) 13:00~17:20

会場: 東邦大学 医学部第 3 講義室(3 号館地下 1 階)

報告会プログラム

開会挨拶 東邦大学大学院医学研究科長 渡邊 善則 13:00～13:05

平成 30 年度の事業概要説明 研究プロジェクトリーダー 中野 裕康 13:05～13:10

研究プロジェクト報告 1 座長：館田一博(医学研究科)

1. 近藤元就(医学研究科) 13:10～13:35

「皮膚バリア形成に関わるインターロイキン7の役割解析」

2. 渡辺直子(理学研究科) 13:35～14:00

「マウス慢性皮膚炎におけるシスチントランスポーターの役割」

3. 石河晃(医学研究科) 14:00～14:25

「乾癬の表皮バリア機能と病勢に関わるバイオマーカーの確立」

研究プロジェクト報告 2 座長 中野裕康(医学研究科)

4. 本間栄(医学研究科) 14:35～15:00

「急性肺上皮障害モデルマウスを用いた2型肺胞上皮細胞増殖因子の探索」

5. 南木敏宏(医学研究科) 15:00～15:25

「間質性肺炎におけるフラクタルカインの病態形成への関与とその阻害による治療効果」

6. 館田一博(医学研究科) 15:25～15:50

「上皮バリア破綻機構の解明を目指したマウス感染症発症モデルの構築」

研究プロジェクト報告 3 座長 近藤元就(医学研究科)

7. 安齋洋次郎(薬学研究科) 16:00～16:25

「シード化合物の探索のための培養細胞を用いたスクリーニング」

8. 三上哲夫(医学研究科) 16:25～16:50

「潰瘍性大腸炎と関連腫瘍における細胞接着因子等の発現異常」

9. 中野裕康(医学研究科) 16:50～17:15

「JunBによる腸管上皮恒常性維持機構の解明」

閉会挨拶 東邦大学学長 高松 研 17:15～17:20

ご出席の皆様へ

平素より本事業ならびに東邦大学の教育・研究・診療に多大なるご協力・ご支援を頂きありがとうございます。また、本日はご多用のところ本報告会にご出席賜り厚く御礼申し上げます。本報告会におきましては、9名の事業担当者それぞれから、平成30年度の1年間の進捗状況について詳細な発表をいたしますが、それに先立ちまして、事業全体の進捗状況・成果について簡単にお知らせいたします。

事業目的：

感染症や慢性炎症性疾患を克服するために、その根底にある上皮バリア機構の維持における上皮細胞、免疫細胞、細菌叢、サイトカインなどの役割を多角的に解析して、バリア機構を向上させるための標的遺伝子や新規化合物の同定を目指します。また、外部環境因子と体内環境因子との共存・調和を図り、上皮バリア機構を十分に回復・保持させることにつなげて、新しい視点に立った予防的医療の概念を世界に向けて発信していきます。

現在の進捗状況：

9名の事業担当者による個別研究および共同研究により、ヒトの皮膚疾患の病勢を反映する非侵襲的検査の指標として有望なマーカーを同定しました。さらに、慢性皮膚炎マウスモデルを構築し、酸化ストレスを介した発症機構の解明を行うとともに、皮膚バリア機構の修復を促す薬剤の効果測定を行うための試験系の開発を行っています。また皮膚での感染防御に関与する免疫系の機能を検証するためのモデルマウスを作成し、解析を続けています。

一方で、間質性肺炎モデルを用いた研究により、新たな治療法開発につながる増殖因子の同定を行いました。また、関節リウマチなどに随伴する間質性肺炎を再現するモデル系を構築し、現在、抗体薬の治療効果について検証を行っています。呼吸器感染症のモデルマウスを用いた上皮バリア破綻についての研究も進めています。

そして、慢性腸炎からの発癌機構についての解析や、腸管感染症モデルを用いた研究を行い、さらに、腸管バリア機構維持に重要なリンパ球の機能についても、遺伝子改変マウスを用いた研究によって新たな知見を蓄積し続けています。

これらの成果を基に、事業開始以降100報以上の英文論文を発表しています。さらに、ホームページ(年間1万ページビュー以上)や広報誌での事業報告・オープンキャンパス等での公開講座等の活動を継続しているほか、平成30年6月には100名以上の方々にご参加いただき、「オール東邦大学で挑む上皮バリア研究-BenchからBedsideへ-」と題したシンポジウムを開催しました。自己点検体制や学内外の評価委員による評価体制をもとに、研究活動のさらなる質向上に努め、学内研究者たちの交流・研鑽に資する活動も継続しています。

今後も、より一層の事業推進と学術界ならびに地域の皆様への情報発信に努めてまいります。引き続きご支援を賜りますようお願いいたします。

東邦大学学長 高松 研

東邦大学研究ブランディング事業 プロジェクトリーダー 中野裕康(医学研究科)

講演 1

皮膚バリア形成に関わるインターロイキン7の役割解析

近藤 元就

医学研究科 免疫学講座

生体は絶えず外来異物の侵入に曝されている。侵入を防ぐ免疫系は自己を維持するために必須の生体防御系である。皮膚では、角層や顆粒層などで構成される表皮が生体防御系の初期過程を担当する。その内側の真皮には膠原繊維や弾性繊維がある。表皮や真皮からなる防御壁の中にはまり込むように生体防御を専門にする免疫系細胞が局在する。防御壁をつくる細胞と免疫系細胞とが協調して最初のバリアをつくっている。これらの細胞は統制されたバリア機能を示すが、これはサイトカインや増殖因子とよばれる分子が細胞間の連絡ツールとして働いているからである。

我々はこれまでにリンパ球の成熟や機能に不可欠なサイトカインやその受容体に注目して解析を進めてきた。インターロイキン7(IL-7)はT細胞の成熟や記憶細胞形成に必須なだけでなく、皮膚を含めた末しょう組織に常在するT細胞の維持にも欠かせない役割を果たしている。私たちは皮膚バリア機能と感染免疫におけるIL-7の役割を明らかにする目的で、表皮特異的IL-7欠損(IL-7cKO)マウスを作製した。黄色ブドウ球菌感染による皮膚炎モデルをマウスに誘導したところ、野生型マウスに比べIL-7cKOマウスは定着菌数の減少を示した。しかし、皮膚炎症状は野生型マウスと比較してIL-7cKOマウスは強い症状を呈した。

IL-7cKOマウスを詳細に調べたところ、感染とは独立して皮膚肥厚が自発的に生じることがわかってきた。特に膠原繊維層が著明に厚くなる傾向が認められた。皮膚から調製したmRNAでは、塩基性繊維芽細胞増殖因子やトランスフォーミング増殖因子 β の転写上昇が認められた。IL-7が皮膚バリアの形成や維持をコントロールしていることを示唆するが、現在その詳細な機構を解析している。

講演 2

マウス慢性皮膚炎におけるシステントランスポーターの役割

渡辺 直子

理学研究科 生物分子科学専攻 分子生物学部門

炎症反応においては、反応局所に好中球やマクロファージが浸潤し、活性酸素種 (ROS) が過剰に産生される。そのため、通常の抗酸化機構では ROS が消去されず、レドックスバランスが崩れて酸化ストレス状態に陥る。還元型グルタチオンは ROS を消去する抗酸化物質であり、その生合成は基質であるシステインの供給によって影響を受ける。システントランスポーター system x_c^- はシステインの供給に関わり、酸化ストレス刺激によって輸送担体 xCT の発現が誘導され、system x_c^- の活性が上昇する。*In vivo*においても、酸化ストレス誘導を伴う状況下では system x_c^- を介したレドックスバランス制御が関わっている可能性が考えられ、クロトンオイル塗布による刺激性接触皮膚炎において xCT の関与を明らかにした。そこで、本研究では、2',4'-dinitrofluorobenzene の反復塗布により誘導されるマウス慢性皮膚炎において、system x_c^- の関与を検討した。

C57BL/6 野生型 (WT) マウスの耳に慢性皮膚炎を誘導すると、耳の腫脹、炎症性サイトカインやケモカインの発現上昇、反応局所へのリンパ球、好中球、マクロファージの浸潤が認められた。一方、同系統の xCT 欠損 (KO) マウスでは、これらすべての炎症応答が亢進した。また、WT と比べて xCT KO マウスでは、慢性皮膚炎に伴う所属リンパ節の肥大がより顕著であり、Th1 細胞を主体とした T 細胞数の増加が観察された。以上の結果から、system x_c^- の欠損は慢性皮膚炎の増悪化をもたらすことが明らかとなり、炎症局所における炎症関連分子の発現や T 細胞をはじめとする炎症性細胞浸潤の増加、および T 細胞亜集団の変化によって増悪化が引き起こされていることが示唆された。

講演 3

乾癬の表皮バリア機能と病勢に関わるバイオマーカーの確立

石河 晃

医学研究科 皮膚科学講座

【背景】

昨年、テープストリッピング法にて採取した乾癬皮疹部角質細胞の抽出液を用いて S100A8/A9 の ELISA を行ったところ、発現が顕著に増加しており、乾癬の病勢を表すスコアである PASI(Psoriasis. Area and Severity Index)スコアとの相関が示唆された。また、関節症性乾癬患者に S100A8/A9 の発現が非常に高い傾向があることが判明した。

【目的】

乾癬患者をターゲットして、非侵襲的な方法を用いて採取できる角質細胞に注目し、その病態、病勢と関連するバイオマーカーの探索を進めその意義を検討する。

【方法】

昨年に引き続いて乾癬の初診患者から検体を収集することに加えて、バイオ製剤によって治療介入を行った患者から、また、疾患コントロールとしてアトピー性皮膚炎患者からテープストリッピング法を用いて角質細胞と患者血清、生検皮膚病理組織を収集した。S100A8/A9 以外のいくつかの因子を角質細胞においても定量し、重症度や臨床型などの臨床情報と比較しながら解析をおこなった。

【結果】

①症例集積数 尋常性乾癬は昨年より 12 症例増加し、28 名(男性 23 名、女性 5 名、平均年齢 51.3 歳)、関節症性乾癬 19 名(男性 16 例、女 3 例、平均年齢 53.5 歳)、滴状乾癬 2 名(男性 2 名、平均年齢 38 歳)。アトピー性皮膚炎(AD)9 名(男性 7 名、女性 2 名、平均年齢 35.2 歳)を収集した。

②乾癬角層における S100A8/A9 の発現検討：乾癬皮疹部ならびに AD 皮疹部における角層中の S100A8/A9 の ELISA を行ったところ、発現が乾癬皮疹部で顕著に増加していることが確認されたが AD では一部の症例で若干の増加がみられたに過ぎなかった。また、バイオ製剤による治療で PASI スコアが改善した患者においては S100A8/A9 の値も顕著に低下していた。関節症性乾癬患者では血清中の MMP-3 が病勢の指標の一つとして用いられているが、S100A8/A9 の方が病勢を鋭敏に反映している傾向がみられた。

③角層内 β ディフェンシン濃度は乾癬患者角層で増加していたが病型や病勢スコアとの相関はなかった。

【結論】

S100A8/A9 の測定は尋常性乾癬の病勢を反映する非侵襲的検査の指標として有望である。

講演 4

急性肺上皮障害モデルマウスを用いた 2 型肺胞上皮細胞増殖因子の探索

本間 栄

医学研究科 内科学講座呼吸器内科分野

間質性肺炎(肺線維症)は慢性進行性の予後不良な疾患である。近年、肺胞上皮細胞の障害とそれに続いておこる組織のリモデリングが病態の本体であると考えられているが、病態の解明には至っていない。肺胞は肺胞腔を被覆しガス交換に参与する I 型肺胞上皮細胞(alveolar epithelial cells type 1: AEC1)と、サーファクタントプロテインなどを分泌する II 型肺胞上皮細胞(AEC2)から構成されている。これまでの研究から AEC2 が AEC1 の幹細胞と考えられており、AEC2 の増殖を促進することができれば、間質性肺炎の新たな治療法の一つとなる可能性があるが、その増殖や再生のメカニズムの全貌は解明されていない。

今回、我々は AEC2 の増殖因子の同定を目的として、AEC2 およびマクロファージなどで発現の高い Lysozyme M 遺伝子のプロモーター下にヒト DTR(diphtheria toxin receptor)を発現させた *LysM-DTR* マウスを用いて、急性の AEC2 障害を誘導し、その後の修復過程を継続的解析することで、新規増殖因子の同定を試みた。マウスはヒトの細胞と異なり DTR が発現していないことから、ヒト DTR を発現した遺伝子改変マウスは、DTR 発現細胞だけが DT 投与によりアポトーシスに陥り除去されることが知られている。

LysM-DTR マウスに DT を投与したところ 24 時間をピークにアポトーシス細胞が出現し、AEC2 と同時に肺胞マクロファージが消失した。広範な上皮障害を認めたにも関わらず、肺胞領域では増殖細胞(Ki67 陽性細胞)は 96 時間後まで出現しなかった。肺胞の恒常性維持にはマクロファージによるアポトーシス細胞の貪食が必要であることから、野生型マウスの骨髄を *LysM-DTR* マウスへ移植することで骨髄キメラマウス(Wild type → *LysM-DTR*; W-L 群)を作製し同様に DT 投与を行った。W-L 群では、*LysM-DTR* の骨髄を *LysM-DTR* マウスへ移植した対照マウス(L-L 群)と比較して 72 時間で肺胞領域において増殖細胞が出現した。このことはアポトーシス細胞を増殖したマクロファージが AEC2 の増殖因子を産生している可能性を示している。

そこで L-L 群と W-L 群で網羅的な遺伝子発現解析を行ったところ、複数の増殖因子が W-L 群で上昇しており、現在それらの遺伝子の AEC2 増殖への関与を検討中である。一方で、*LysM-DTR* マウスの急性肺障害に伴い変動する血清中のメタボライトを解析したところ Arginine, Citrulline, Serotonin などが AEC2 の障害に伴い減少していた。これらのメタボライトはヒトの急性肺障害でも低下している可能性があり、今後はヒト患者検体でも検討していきたいと考えている。

講演 5

間質性肺炎におけるフラクタルカインの病態形成への関与と その阻害による治療効果

南木 敏宏

医学研究科 内科学講座膠原病学分野

膠原病に合併する間質性肺炎(IP)は治療法も確立されておらず、予後不良である。そのため、病態の解明と新規治療開発が強く期待されている。その中で関節リウマチ(RA)はTNF 阻害薬等により疾患活動性と予後の改善がみられているが、RAに伴うIPに関しては、治療法は確立されていない。炎症細胞浸潤に関与するケモカインは、RA病態に関与する。現在ケモカインの一つであるフラクタルカイン(FKN)の阻害抗体によるRAに対する治療が行われている。第1/2a相試験では忍容性が示され、関節炎抑制効果が期待される結果であった。一方、FKN阻害は関節炎と共にIP抑制効果も期待されるが、その効果は不明である。本研究では、FKNによるIP病態への関与の解明と、その阻害によるIP抑制効果の解析を目的とする。

RA患者にみられるIPにおいては、FKN、及びその受容体であるCX3CR1の発現が免疫染色にて認められた。

また、C57BL/6マウスにブレオマイシン(BLM)を気道内投与することにより、ブレオマイシン誘導間質性肺炎(BLM-IP)を発症させた。BLM-IPにおいても、FKN、CX3CR1の発現増強を認めた。BLM-IPに、抗FKN抗体を投与したが炎症細胞浸潤抑制はみられなかった。しかし、肺組織のコラーゲン量を定量すると、抗FKN抗体投与群ではコントロール抗体投与群と比較して有意に減少していた。*In vitro*で肺線維芽細胞をFKN刺激しコラーゲン産生量を測定したが、有意な変化はみられなかった。FKN刺激による肺線維芽細胞の遊走亢進作用は認めた。

さらに、より膠原病に合併するIPに近いモデルとして、関節炎とともにIPを発症するSKGマウスを用いた。SKGマウスにザイモザン投与4週過ぎより関節炎が発症し、IPも4週より軽度発症し、12週まで悪化した。現在、本マウスを用いてFKNの関与を検討している。

講演 6

上皮バリア破綻機構の解明を目指したマウス感染症発症モデルの構築

館田 一博

医学研究科 微生物・感染症学講座

感染症の発症には、病原体の感染部位への付着・侵入が重要となるが、呼吸器、腸管、皮膚、口腔内などには病原体を含む様々な微生物により常在菌叢が形成されている。宿主上皮バリア構造と常在菌との間では平衡状態が保たれており、宿主免疫能の低下などがトリガーとなり、潜在的病原体による感染症が発症することとなる。

本研究課題において我々は、呼吸器感染症としてレジオネラ肺炎、MRSA 肺炎、インフルエンザ後肺炎球菌性肺炎、腸管感染症としてクロストリディウム・デフィシル感染症、皮膚感染症として MRSA モデルを用いて宿主側および病原体側より解析を行ってきた。

本報告会では、いくつかの感染モデルに焦点をあてながら、これまでの研究の進展の概略をご説明する。また、今後の研究の方向性についてもお話しさせていただきご参加の先生方からご意見をいただければと思う。

講演 7

シード化合物の探索のための培養細胞を用いたスクリーニング

安齋 洋次郎

薬学研究科 微生物化学講座

アトピー性皮膚炎や乾癬などの皮膚疾患は、皮膚の免疫学的異常とバリア機能の異常の二面的な現象から病態が考えられている。ケラチノサイトから各種ケモカインが放出されると好中球などの遊走が引き起こされ、免疫バランスが崩壊し炎症状態となり、掻痒感などの症状を呈するようになる。また、ケラチノサイトの増殖分化や遊走機能に異常が起こると皮膚の正常なターンオーバーが起こらなくなり、肥厚や水分保持機能の低下が起こる。創傷治療の観点からも、ケラチノサイトの遊走機能は重要であり、遊走が遅いと治癒が遅れ、逆に早すぎるとケロイドが形成される。本研究では、これらの皮膚疾患の治療や研究に繋がるシード化合物の探索研究のために2つのスクリーニング系を検討した。

ヒトケラチノサイトにおいて TNF- α 刺激により産生される IL-8 に注目し、IL-8 産生を抑制する化合物を探索する系を作成した。ヒトケラチノサイト細胞である HaCaT 細胞を 105 cell/well で播種し、4 時間インキュベーション後 TNF- α を用いて IL-8 の誘導を行った。細胞播種 24 時間後に IL-8 産生量を ELISA 法により測定した。スクリーニングの選択基準は、IL-8 産生量阻害率を 80%以上、細胞生存率を 80% 以上とした。スクリーニングサンプルとして、土壌より分離した放線菌培養液の等量エタノール添加溶液約 1200 サンプルおよび HP-20 抽出溶液約 50 サンプルを用いて一次スクリーニングを行ったところ、8 サンプルが上記基準を満たしていた。これらのサンプルについて、活性の再現性を確認した後、活性物質の単離・精製を検討していく予定である。また、当講座で保有している放線菌産生化合物ライブラリー（322 化合物）についても、現在、スクリーニングを進めている。

さらに、ケラチノサイトの遊走機能を制御する化合物を探索するためのスクリーニング系を検討した。ヒトケラチノサイトを培養する際に 500 μ m の間隙を作成し、間隙の距離を経時的に測定することでヒトケラチノサイトの遊走能を評価した。現在、この系を応用したスクリーニング系のセットアップを進めている。

講演 8

潰瘍性大腸炎と関連腫瘍における細胞接着因子等の発現異常

三上 哲夫

医学研究科 病理学講座

発癌機構における重要な経路として慢性臓器炎からの発癌が注目されており、潰瘍性大腸炎(UC)関連癌はその代表的なモデルとなっている。本事業にて UC 関連癌に特異的な上皮細胞の接着系の異常として、UC 関連癌では細胞接着因子 CD44 の発現が低下していること、タンパク分解酵素 Adam17 の発現が有意に増加していることを示してきた。

CD44 は細胞外マトリクスとの接着因子とされ、その発現低下は細胞の運動能・浸潤能の獲得に関与し、タンパク分解酵素 Adam17 は CD44 の細胞外ドメインの切断に関与するとされている。組織上で検討してきたこの現象を、本年度さらに検討するべく、培養細胞 (Colo320, WiDr など)での検討を行ったので報告する。

さらに、これまで、エストロゲンが潰瘍性大腸炎関連癌におけるエストロゲン受容体 β (ER β)の発現を検討してきた。UC 関連癌における ER β の発現は通常の大腸癌、大腸腺腫と比較して有意に低下していたが、そこで、その ER β の発現低下を示した部分の Ki67, p21 の発現を検討したところ、ER β の発現低下部位で Ki67 発現は低率であり、p21 は一定の傾向は認められなかった。ER β は一般的には癌に促進性に働くとされるが、潰瘍性大腸炎関連大腸癌では ER β の作用の関与が低いことが予想された。

講演 9

JunB による腸管上皮恒常性維持機構の解明

中野 裕康

医学研究科 生化学講座

転写因子 JunB は胎盤形成、骨髄細胞の分化、骨形成、表皮の恒常性維持などの多彩な機能を有している。我々は最近 JunB が TH17 細胞の分化に必須の役割を果たしており、JunB を CD4 陽性細胞で欠損させた(*Jun^{fl/fl} Cd4-Cre*)マウスでは実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)の発症が完全に抑制されることを報告した。

今回我々は腸管上皮バリアの恒常性維持における JunB の役割を検討するために、*Junb^{fl/fl} Cd4-Cre* マウスに Dextran sulfate sodium (DSS)を投与して上皮障害性の大腸炎を誘導した。*Junb^{fl/fl} Cd4-Cre* マウスでは EAE は全く発症しないにも関わらず、予想外なことに DSS 誘導性大腸炎が増悪することを見出した。なんらストレスを加えない状況では、*Junb^{fl/fl} Cd4-Cre* マウスは大腸炎を発症しないが、野生型マウスに比較して DSS 投与後の *Junb^{fl/fl} Cd4-Cre* マウスの大腸では大腸の長さの短縮と好中球浸潤が増加していることが判明した。予測通り TH17 細胞は大腸において欠損していたが、*Il17a* の腸管における発現は低下しておらず、IL-17A の腸管での産生細胞は TH17 細胞ではない 3 型の自然リンパ球である可能性が示唆された。

腸炎の増悪の原因を検討したところ免疫抑制作用を有する制御性 T 細胞(Treg 細胞)数が大腸、小腸、脾臓、リンパ節、胸腺で減少していることを見出した。さらに JunB が欠損することでどのようなメカニズムにより Treg 細胞が減少するかを検討した。通常の Treg 細胞を誘導する *in vitro* の条件下では Treg 細胞の分化は正常であったが、外因性の IL-2 を加えなかったところ Treg 細胞の著明な分化障害が認められた。さらに IL-2 の高親和性受容体の構成因子である IL-2 受容体アルファサブユニット(IL-2R α)の発現を検討したところ、*Junb* 欠損 CD4 陽性細胞で発現の低下がみられた。このことは JunB が IL-2R α の発現を上昇させることで、効率的な Treg 細胞の分化誘導に必須であることを示している。

MEMO

ご参加いただきありがとうございました。
本事業の概要・活動報告・今後の予定など最新情報は、
ホームページにて随時更新しておりますので、是非ご覧ください。



[ブランディング事業ホームページはこちら](#)

