

弾性線維の形成と維持の機構の研究

[1] 組織

代表者：中邨 智之

(関西医科大学医学部)

対応者：堀内 久徳

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

赤間 智也 (関西医科大学医学部)

研究費：物件費45万円、旅費0円

[2] 研究経過

我々は加齢とともに組織の伸縮性を失っていく。「体が硬くなった」とか皮膚がたるむ、というだけではなく、動脈も硬くなり、肺の伸縮性低下は肺気腫をもたらす。組織の伸縮性を司るのは弾性線維という細胞外マトリックスであり、弾性線維の分解・劣化がこれら老化に関連する現象や疾患の直接原因である。

これまでの研究で研究代表者らは **Fibulin-5** (別名 **DANCE**) という分泌タンパク質をクローニングし (*J Biol Chem* 274: 22476-83, 1999)、その遺伝子欠損マウスが全身の弾性線維形成不全のため皮膚のたるみ、肺気腫、動脈中膜硬化といったヒトの老化様の表現型を来すことを見出した (*Nature* 415:171-75, 2002)。引き続いて **Fibulin-5** がエラスチンと結合してマイクロフィブリルにリクルートすること、その作用に **LTBP-4** というマイクロフィブリルに共局在する細胞外マトリックス分子が必要であることなどを見出し、弾性線維形成の分子機構を明らかにしてきた (*J Cell Biol* 176:1061-71, 2007、*Proc Natl Acad Sci USA* 110:2852-7, 2013 など)。

弾性線維は成長期が過ぎるとおこらないとされているが、研究代表者らは成長期の後も **Fibulin-5** が引き続いて発現しており、高濃度で血中を循環していることを見出した (未発表)。もはや弾性線維形成がおこらないはずの時期に発現し体内循環している **Fibulin-5** の役割は不明である。本研究では、成体において **Fibulin-5** が弾性線維を維持しているという仮説を検証する。

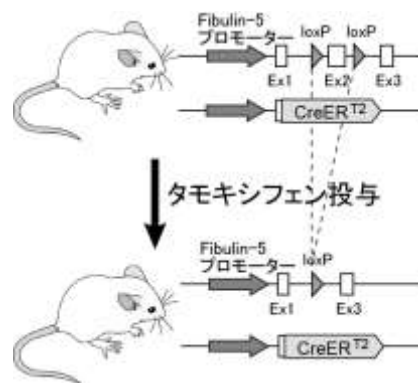


図 時期特異的に **Fibulin-5** をノックアウトできるマウス。**Fibulin-5** の片側アレルは **lox** とし、もう片側アレルには薬剤誘導性 **Cre** をノックインしてある。

以下、研究活動状況の概要を記す。

東北大学堀内教授の指導と助言のもとに、**Fbln5 flox** マウス、**Fbln5** 遺伝子座への **CreERT2** (タモキシフェンにより核へ移行する **Cre** リコンビナーゼ) ノックインマウスのコンストラクト作成を行った。ES 細胞へのコンストラクト導入とマウス作成は関西医科大学で行い、それぞれキメラマウスの仔の中にヘテロマウスを得ることができた。研究打ち合わせを仙台で1回行った他、随時メールと電話で意見交換した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本研究で目指しているのは、**Fbln5** 遺伝子の片側アレルが **lox**、もう片側アレルに **CreERT2** ノックインされたマウスを作成し、時期特異的にタモキシフェンを投与して **Cre** リコンビナーゼを活性化することで **Fbln5** 遺伝子ノックアウトを達成することである。今年度は、それに必要な **Fbln5 flox** マウスと **CreERT2** ノックインマウスの作成に成功した。これからこれらを掛け合わせ、タモキシフェン投与によるノックアウト効率を検証し、その後表現型解析を行う予定にしている。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学外研究者との交流が飛躍的

に活性化し、研究者ネットワークが拡大した。

本研究は、細胞外マトリックス、特に弾性線維が維持される機構、加齢に伴って弾性線維が劣化していく機構を解明することをめざしている。その成果は、老化関連疾患の予防と治療のための新たな標的を示し、治療薬開発のための基盤となる知識を提供すると期待される。

[4] 成果資料

1. Nakasaki M, Hwang Y, Xie Y, Kataria S, Gund R, Hajam EY, Samuel R, George R, Danda D, M J P, Nakamura T, Shen Z, Briggs S, Varghese S, Jamora C: The matrix protein Fibulin-5 is at the interface of tissue stiffness and inflammation in fibrosis. *Nat Commun* 6:8574, 2015.
2. Noda K, Nakamura T, Komatsu Y: Fibulin-5 deficiency causes developmental defect of premaxillary bone in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 466:585-91, 2015.
3. Aya R, Ishiko T, Noda K, Yamawaki S, Sakamoto Y, Tomihata K, Katayama Y, Yoshikawa K, Kubota H, Nakamura T, Naitoh M, Suzuki S: Regeneration of elastic fibers by three-dimensional culture on a collagen scaffold and the addition of latent TGF- β binding protein 4 to improve elastic matrix deposition. *Biomaterials* 72:29-37, 2015.
4. Fanhchaksai K, Okada F, Nagai N, Pothacharoen P, Kongtawelert P, Hatano S, Makino S, Nakamura T, Watanabe H: Host stromal versican is essential for cancer-associated fibroblast function to inhibit cancer growth. *Int J Cancer* 2015 Aug 13. doi: 10.1002/ijc.29804.
5. Bultmann-Mellin I, Conradi A, Maul AC, Dinger K, Wempe F, Wohl AP, Imhof T, Wunderlich FT, Bunck AC, Nakamura T, Koli K, Bloch W, Ghanem A, Heinz A, von Melchner H, Sengle G, Sterner-Kock A: Modeling autosomal recessive cutis laxa type 1C (ARCLIC) in mice reveals distinct functions of Ltbp-4 isoforms. *Dis Model Mech* 8:403-415, 2015.