

# 1. レドックス感受性アダプター分子の疾患発症における役割

昭和大学医学部生化学講座 准教授 金山 朱里

生体内で細胞はつねに細胞外微小環境制御を受けており、様々な病変組織ではその病態の進行に細胞が産生する細胞外マトリクス (extracellular matrix : ECM) が重要であることが認識されている。この病態制御に関わる ECM と細胞間の相互作用に重要な細胞側ゲートが、インテグリンを軸として形成される細胞接着斑 (focal adhesion: FA) 装置である。本研究で着目する Hic-5 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-inducible clone-5, 別名: Tgfb1i1: TGF- $\beta$  1-inducible transcript-1) はレドックス感受性アダプター分子であり、通常は細胞接着斑に局在する一方で、活性酸素に応答して核内に蓄積し遺伝子発現制御に関与する。また生体内では、血管、消化管、子宮などの平滑筋細胞に発現し、正常平滑筋細胞内ではメカニカルストレス下でアクチン骨格制御に関与し細胞の収縮能を制御する。我々はこれまで Hic-5 欠損マウスで粥状動脈硬化症、動脈瘤や血小板血栓形成といった複数の動脈硬化性疾患の発症が抑制されることを報告してきた。さらに近年、肝線維化や大腸がんなど生活習慣に起因する様々な非感染性疾患の発症が Hic-5 欠損マウスで抑制されることを明らかにしている。本発表では当研究室での研究成果ならびに過去の知見を基に、Hic-5 の創薬ターゲットとしての可能性について紹介する。

## 【参考文献】

- 1) Omoto T, Kim-Kaneyama JR, Lei XF, *et al.* The impact of stromal Hic-5 on the tumorigenesis of colorectal cancer through lysyl oxidase induction and stromal remodeling. *Oncogene*. 2018;**37**:1205-1219.
- 2) Lei XF, Fu W, Kim-Kaneyama JR, *et al.* Hic-5 deficiency attenuates the activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis through upregulation of Smad7 in mice. *J Hepatol*. 2016;**64**:110-117.

## 2. 生活習慣病に潜むタンパク質分解異常

昭和大学医学部生化学講座 准教授 宮崎 拓郎

近年、オートファジーやプロテアソーム系に代表されるタンパク質分解系の制御不全が、異常タンパク質の蓄積を介して生活習慣病の発症に寄与するとの新規概念が提唱されている。細胞内タンパク質分解の異常は死細胞の蓄積、線維化等の変性を引き起こし、実質臓器や血管ならびにがん組織に至る幅広い臓器で病態生理学的な応答を増幅させるようだ。演者は、タンパク質分解系の中でも極めてユニークな機構として、細胞内制御性プロテアーゼ「カルパイン」ファミリーを検証してきた<sup>1,2,3)</sup>。カルパインファミリーは哺乳類で15のホモログを有するストレス応答性のタンパク質プロセッシング機構で、タンパク質分解だけでなく機能的分子の翻訳後修飾を介して細胞形質を制御する。本発表では、演者らの解析結果に基づき動脈硬化症、がん、網膜症等の生活習慣病関連疾患におけるカルパインファミリーの作用原理について概説するとともに、タンパク質分解を介さないカルパインの全く新しい機能についても議論したい。

### 【参考文献】

- 1) Miyazaki T, Tonami K, Hata S, *et al.* Calpain-6 confers atherogenicity to macrophages by dysregulating pre-mRNA splicing. *J Clin Invest.* 2016;**126**:3417-3432.
- 2) Miyazaki T, Taketomi Y, Saito Y, *et al.* Calpastatin counteracts pathological angiogenesis by inhibiting suppressor of cytokine signaling 3 degradation in vascular endothelial cells. *Circ Res.* 2015;**116**:1170-1181.
- 3) Miyazaki T, Taketomi Y, Takimoto M, *et al.* m-Calpain induction in vascular endothelial cells on human and mouse atheromas and its roles in VE-cadherin disorganization and atherosclerosis. *Circulation.* 2011;**124**:2522-2532.

### 3. オルガノイド技術を用いた多能性幹細胞による 3 次元唾液腺の誘導

昭和大学歯学部口腔病態診断科学講座口腔病理学部門 講師 田中 準一

シェーグレン症候群や口腔がんの放射線治療による唾液腺障害は唾液分泌量の低下による口腔乾燥症（ドライマウス）を引き起こす。口腔乾燥症では齲蝕、口腔感染症および摂食嚥下障害などの罹患率の上昇がみられるが、現状では人工唾液や唾液分泌促進薬などによる対症療法が主体で、傷害された唾液腺組織への細胞治療等による根本的治療法の開発が望まれている。

再生医療の技術開発として、これまで ES・iPS 細胞から様々な細胞、および組織が誘導されてきたが、近年では生体内の臓器発生過程を *in vitro* で模倣することにより多能性幹細胞から多種類の構成細胞を持つ三次元的なオルガノイド（ミニ臓器）の誘導方法が相次いで報告されている。しかしながら唾液腺を含む外分泌腺オルガノイドについては分化誘導方法が確立されていなかった。

我々は、マウス唾液腺発生過程の解析により唾液腺発生に重要な 2 つの転写因子（Sox9, Foxc1）を同定し、*in vitro* で唾液腺発生過程を模倣することによりマウス ES 細胞から腺房細胞や導管細胞が極性を持って配列する 3 次元唾液腺オルガノイドを誘導することに成功した。さらに、誘導したマウス ES 細胞由来唾液腺を唾液腺切除部位に移植することにより既存の唾液腺を代替し唾液分泌能を有することが明らかとなった。これらの結果は、多能性幹細胞由来オルガノイドの同所移植による臓器の代替可能性を示したものである。

#### 【参考文献】

- 1) Tanaka J, Ogawa M, Hojo H, *et al.* Generation of orthotopically functional salivary gland from embryonic stem cells. *Nat Commun.* 2018;**9**:4216.
- 2) Tanaka J, Mishima K. In vitro three-dimensional culture systems of salivary glands. *Pathol Int.* 2020;**70** : 493-501.

## 4. 最新技術で迫る破骨細胞の真の姿

昭和大学歯学部歯科薬理学講座 教授 高見正道

破骨細胞は骨吸収機能を有する多核巨細胞であり、骨との接着面に環状に連なった接着斑「明帯（封鎖帯）」と、その内側にひだ状の細胞膜構造物「波状縁」を形成し、波状縁より放出されるプロトンおよびプロテアーゼによって骨基質を消化する。この破骨細胞の形態モデルは、1980年頃に電子顕微鏡を用いた骨組織の観察像に基づいて確立され、今もそれが定説となっている。

それから約40年が過ぎた今、我々は本学電子顕微鏡室の高木講師との協働により、光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡（SEM）の同一視野観察を可能にした「光・電子相関顕微鏡法（CLEM）」および、ナノメートル幅で連続的なSEM像を取得できる

「Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope（FIB-SEM）」という最新技術を用いて、3D画像構築をはじめとする破骨細胞の高次構造の解析を試みた。

その結果、破骨細胞の高次構造は予想以上に複雑かつ整序的であり、明帯と波状縁の位置関係やプロトンの集積部位が、従来のモデルとは明確に異なることが判明した。また、明帯は未吸収の骨基質を識別するための「硬さセンサー」であるとともに、その強い接着力で破骨細胞本体を未吸収部位へ移動させる「牽引装置」としての機能を担うと予想された。この破骨細胞が硬さを感じながら骨上を移動する機能を我々は「Durotaxis（走硬性）」と呼ぶ。

今回の講演で、破骨細胞の機能および形態学的な特徴に加え、本学の電子顕微鏡を用いた解析技術についてもご理解いただければ幸いである。

### 【参考文献】

- 1) 高見正道. 破骨細胞の分化と機能-免疫と骨代謝の接点-. 埼玉医大誌. 2006;**33**:80-81.
- 2) Matsunaga A, Takami M, Irie T, *et al.* Microscopic Study on Resorption of  $\beta$ -tricalcium Phosphate Materials by Osteoclasts. *Cytotechnology*. 2015;**67**:727-732.