

## 2021年度東京慈恵会科大学大学間共同プロジェクト研究費成果概要

報告日 2022年 4月 18日

部署名	病理学講座
研究代表者氏名	下田将之

1. 共同研究テーマ名	消化管恒常性維持・破綻に関わるヒアルロン酸分解系の役割解析
2. 共同研究の連携先機関名	宮崎大学医学部 病理学講座 腫瘍・再生病態学分野

## 研究成果の概要

ヒアルロン酸(Hyaluronic acid=HA)は、直鎖状グリコサミノグリカンからなる細胞外マトリックスの一種で、組織や体液中に存在し、組織形成や恒常性維持に深く関わっている。HA代謝機構は病的組織における組織内微小環境を理解する上できわめて重要と考えられるが、これまで生体内におけるHA分解系の全貌は明らかとなっていない。本研究では、HYBID (HYaluronan-Binding protein Involved in hyaluronan Depolymerization)に着目し、Hybid遺伝子欠損マウスを用いて、腸炎におけるHYBID-HA代謝系の役割を検討した。さらに、HYBIDを標的とした炎症に対する新規創薬の探索を行うことを目的とし、*in vitro*のスクリーニングから見出した数種のHYBID阻害候補物質を用いて、DSS誘導大腸炎マウスモデル腸炎に対する薬効を評価した。ヒト潰瘍性大腸炎のマウスモデルであるDSS誘導性大腸炎モデルを用いた解析では、Hybid遺伝子欠損マウスは野生型マウスと比較して体重減少が軽度であるとともに、生存率の改善傾向が認められた。組織学的解析では、野生型マウスとHybid遺伝子欠損マウスのいずれにおいても大腸に潰瘍性病変が見られたものの、腸管組織内のHA蓄積量の増加や炎症細胞浸潤数に変化が認められた。高分子蛍光標識デキストラン(FITC-Dextran)の腸管から血中へのトランスロケーションを用いた腸管透過性評価では、Hybid遺伝子欠損マウスではDSS投与後も上皮細胞障害および腸管バリア破綻が抑制されているとともに、Hybid遺伝子欠損マウスおよび野生型マウス由来初代培養間質細胞では、Hybid遺伝子欠損間質細胞の培養上清中に高分子量HAが多く蓄積している傾向が認められた。以上の結果から、HYBID-HA分解系が大腸炎進展に寄与している可能性が示唆された。現在、*in vitro*の解析から数種のHYBID阻害候補物質を見出すとともに、これら物質のDSS誘導性腸炎に対する薬効を評価している。DSS投与中の野生型マウスにHYBID阻害候補物質を経肛門投与し比較・検討したところ、一種類のHYBID阻害候補物質に関して、コントロールマウスと比べて体重減少の改善を認めている。本HYBID阻害候補物質に関しては今後腸炎に対する新規創薬となりうる可能性があると考えている。

## 今後の展望、成果発表の計画について

2021年度東京慈恵会科大学大学間共同プロジェクト研究費の御支援を頂き、宮崎大学医学部病理学講座片岡寛章教授研究室との共同研究のもと、これまでにHYBIDがHA分解活性を介して腸管恒常性維持・バリア機能維持や炎症細胞動員に関与し、腸炎の進展に寄与する可能性を明らかにした。また、一部のHYBID阻害候補物質が*in vivo*においても腸炎悪化を抑制する可能性を見出した。今後、腸管組織におけるHA分子量に関して、HPLC解析カラムを用いた詳細な解析を加え、研究成果を医学系・病理系英文雑誌に論文投稿する予定である。さらに、*in vivo*において腸炎悪化を抑制するHYBID阻害候補物質に関してはHYBID-HA分解系を標的とした新規創薬となりうる可能性があるため、その作用機序などについてより詳細に解析を進めていく予定である。一方、腸炎関連大腸癌モデルに関しては、腸炎関連大腸癌の発癌機構として知られているinflammation-dysplasia-carcinoma sequenceに関わるTp53遺伝子を欠損したTp53<sup>+/+</sup>-Hybid<sup>-/-</sup>複合遺伝子変異マウスを作製し検討を行っている。現在のところマウス間の個体差が見られており、腫瘍形成や組織像などに関して、コントロールとの間に明確な違いは得られていないが、正確な評価には今後より多くの個体数を用いた解析が必要と考えており、解析をさらに継続していく予定である。また、Apc遺伝子変異マウスと掛け合わせた複合遺伝子改変マウスでの解析も計画している。ヒト潰瘍性大腸炎の重症度とHYBID-HA分解系およびHA沈着の程度との関連に関しては、片岡教授研究室および臨床講座の御支援のもと、主に免疫組織化学的手法を用いて、ヒト潰瘍性大腸炎におけるHYBID発現、各種免疫細胞や線維芽細胞の浸潤程度やHA沈着レベルなどを解析し、ヒト腸炎発症・進展におけるHYBID-HA分解系の臨床的な意義を明らかにしていく予定である。