

# 三重大学難病研究センター

## Mie University Research Center for Intractable Diseases

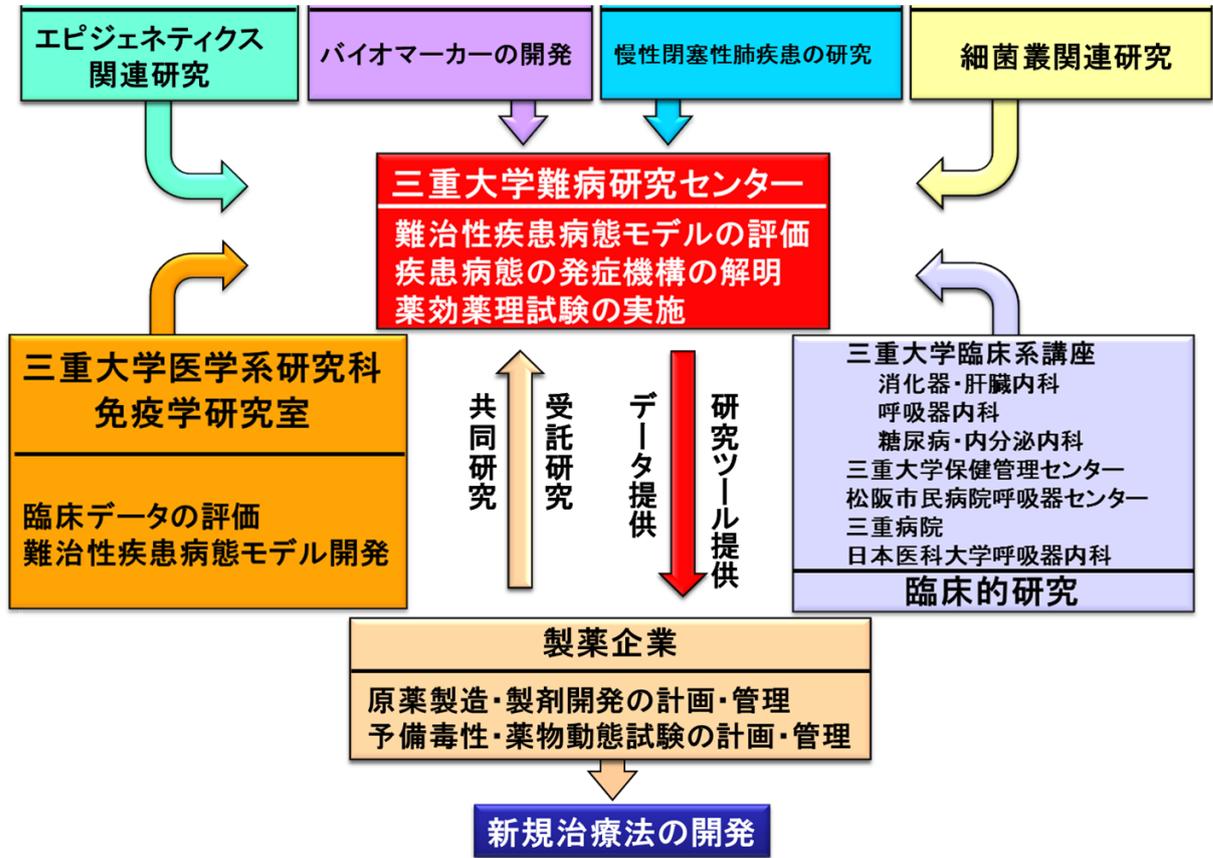
### 1. センターの構成研究者

三重大学医学系研究科免疫学 教授 講師 助教 助教	ガバザ・エステバン 戸田雅昭 ガバザ・コリナ 安間太郎
三重大学医学系研究科消化器・肝臓内科 教授 准教授 講師 医員 大学院生	竹井謙之 岩佐元雄 堀木紀行 諸岡留美 十時利明
三重大学保健管理センター 教授	田口 修
三重大学医学部附属病院呼吸器内科 准教授 助教	小林 哲 藤本 源
三重大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科 准教授 大学院生	矢野 裕 西濱 康太
松阪市民病院呼吸器内科センター センター長	畑地 治
三重病院 院長	藤澤隆夫
日本医科大学呼吸器内科 教授	吾妻安良太
イリノイ大学微生物学・遺伝子学・動物学 教授	Isaac Cann
ペルージャ大学循環器内科 教授	Paolo Gresele
ベルゲン大学呼吸器内科 講師	Tomas Eagan
スタンフォード大学 講師	John Morser

### 2. 研究の背景・ニーズ・目的

肝硬変、肺線維症、気管支喘息、肺高血圧症、慢性閉塞性肺疾患、癌、動脈硬化症、糖尿病、腎硬化症などの難治性疾患は進行した場合極めて予後不良である。その治療法は対症的であることが多く、さらなる治療法の開発が望まれている。新規治療薬開発のためには、臨床的・基礎的研究から得られた情報に基づき疾患病態の解明を行う事と、製薬企業の創薬研究ニーズに合わせた研究ツールの開発を行う事が重要である。本センター設置の目的は、学内外の臨床医学教室、基礎医学教室との共同研究を通して、組織修復異常に起因する難治性疾患の分子機構の解明をすることと、その研究成果に基づいて新しい治療法を開発することである。また、大学と企業との共同研究を促進させるため、オーダーメイドで難治性疾患の病態モデルを開発する。さらに、本センターではアイデアの実現化および産業化に不可欠な実験データの作成および開発手法について議論する目的で、定期的に企業との意見・情報交換の場を設ける。

### 3. センターの研究計画



### 4. センターで行われている研究

- 肺線維症、肝硬変、糖尿病性腎症などの難治性疾患の発症機序の解明と新規治療法の開発
- 難治性疾患の病態形成における細菌叢の役割に関する研究
- 上皮間葉移行の組織リモデリング・線維症への関与とその制御方法に関する検討
- 癌の抗癌剤耐性獲得機序における組織因子の役割に関する研究
- 慢性閉塞性肺疾患の生体防御機構異常に関する研究
- 肺高血圧症発症機序の解明と新規治療法の開発
- アレルギー性疾患発症機序に関する研究

## 5. 開発済の疾患マウスモデル

### a) 短期間で発症するタバコ煙誘発 COPD のマウスモデル:

- 肺気腫が発症しやすいマウスモデルを開発するため、非活性型ヒトマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-2 を過剰発現するトランスジェニック (TG) マウスを作成した。
- トランスジェニックマウスの作成方法は、ヒト MMP-2 発現ベクターを用いて、 $\beta$  アクチンプロモーター等の遺伝子発現用プロモーターと、その下流に配置されるヒト MMP-2 の全遺伝子領域とを含む CAG-hMMP-2 発現コンストラクトを精製し、受精卵に注入する方法で作成した。
- 本モデルでは、全身にヒト MMP-2 を発現すると共に、タバコ煙抽出物等の吸引投与により、COPD を発症するトランスジェニックマウスである。このヒト MMP-2 発現トランスジェニックマウスを用いることにより、COPD に関する研究を飛躍的に発展させることができる。

### b) 自然発症肺線維症のヒト化マウスモデル:

- ヒト transforming growth factor (TGF) $\beta$ 1 の肺過剰発現によりヒトの肺線維症(IPF)の病態を再現するマウスモデルである。
- マウス surfactant protein C のプロモーター領域に配置されているヒト TGF $\beta$ 1 の全長遺伝子が導入されたトランスジェニックマウスである。
- TG マウスでは一定週齢から自然発症的に間質性肺炎・肺線維症が認められる。
- 従来の動物モデルと異なり本モデルマウスは慢性進行性の間質性肺炎・肺線維症を示す。
- TG マウスの肺線維症の臨床経過、画像、肺機能、血液、組織などの検査所見はヒトで発症する肺線維症の検査所見と類似している。

### c) 自然発症糸球体硬化症（腎線維症）のヒト化マウスモデル:

- マウス Podocin のプロモーター領域に配置されているヒト TGF $\beta$ 1 の全長遺伝子が導入された TG マウスである。
- TG マウスでは一定週齢から自然発症的に腎線維症が認められる。
- 従来の動物モデルと異なり本モデルマウスは慢性進行性の腎線維症を示す。

### d) ヒト型上皮細胞成長因子 (EGFR) 変異型 (L858R) 肺癌マウスモデル:

- 肺特異的に L858R 変異を有するヒト EGFR を発現し、肺癌を発症する。
- 本 TG マウスでは「L858R」EGFR の発現により肺癌が短期間で発症する。
- 悪性度の高い肺癌が認められる。
- Tet-On システムにより肺特異的にヒト由来「L858R」EGFR 遺伝子の過剰発現が認められる。

### e) その他のマウスモデル:

- ヒト型プロテイン S 過剰発現マウス
- 短期間で発症する糖尿病性糸球体硬化症マウスモデル
- 腎不全を伴う慢性糸球体硬化症マウスモデル
- 慢性腹膜透析に伴う腹膜線維症マウスモデル
- アレルギー性気管支喘息マウスモデル
- 肺高血圧症マウスモデル

## 6. これまでの研究活動における発表論文の状況 (2013年度~2015年度)

1. Yasuma T, Yano Y, D' Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Gil-Bernabe P, Kobayashi T, Nishihama K, Hinneh JA, Mifuji-Moroka R, Roen Z, Morser J, Cann I, Iwasa M, Takei Y, Gabazza EC. Amelioration of Diabetes Mellitus by Protein S. *Diabetes* 2016, in press.
2. Urawa M, Kobayashi T, D' Alessandro-Gabazza CN, Fujimoto H, Toda M, Roen Z, Hinneh JA, Yasuma T, Takei Y, Taguchi O, Gabazza EC. Protein S is Protective in Pulmonary Fibrosis. *J Thromb Haemost* 2016, in press.
3. Hataji O, Kobayashi T, Gabazza EC. Smart watch for monitoring physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Invest*, 2016
4. Kobayashi H, Naito M, Masuya M, Maruyama M, Urata K, Takahashi Y, Tomaru A, Fujiwara K, Ohnishi M, Takagi T, Kobayashi T, D' Alessandro-Gabazza C, Urawa M, Gabazza EC, Taguchi O, Takei Y. Circulating fibrocytes correlate with the asthma control test score. *Allergol Immunopathol*. 2016, in press
5. Matsumoto T, Matsushima Y, Toda M, Roen Z, D' Alessandro-Gabazza CN, Hinneh JA, Harada E, Yasuma T, Yano Y, Urawa M, Kobayashi T, Taguchi O, Gabazza EC. Activated protein C modulates the proinflammatory activity of dendritic cells. *J Asthma Allergy*. 2015;8:29-37.
6. Harada E, D' Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Morizono T, Chelakkot-Govindalayathil AL, Roen Z, Urawa M, Yasuma T, Yano Y, Sumiya T, Gabazza EC. Amelioration of Atherosclerosis by the New Medicinal Mushroom *Grifola gargar* Singer. *J Med Food*. 2015;18:872-81.
7. Horiki N, Furukawa K, Kitade T, Sakuno T, Katsurahara M, Harada T, Tano S, Yamada R, Hamada Y, Inoue H, Tanaka K, Gabazza EC, Ishii N, Fukuda K, Omata F, Fujita Y, Tachibana H, Takei Y. Endoscopic findings and lesion distribution in amebic colitis. *J Infect Chemother*. 2015; 21:444-8.
8. Tano S, Horiki N, Omata F, Tanaka K, Hamada Y, Katsurahara M, Ninomiya K, Nishikawa K, Nojiri K, Yamada R, Inoue H, Gabazza EC, Katayama N, Takei Y. Second and third-look endoscopy for the prevention of post-ESD bleeding. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94:e491.
9. Roen Z, Toda M, D' Alessandro-Gabazza CN, Onishi M, Kobayashi T, Yasuma T, Urawa M, Taguchi O, Gabazza EC. Thrombomodulin inhibits the activation of eosinophils and mast cells. *Cell Immunol*. 2015;293:34-40
10. Joos GF, Gabazza EC. Is there still hope for single therapies: How do we set up experimental systems to efficiently test combination therapies? *Respirology*. 2015;20:15-23
11. Chelakkot-Govindalayathil AL, Mifuji-Moroka R, D' Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Matsuda Y, Gil-Bernabe P, Roen Z, Yasuma T, Yano Y, Gabazza EC, Iwasa M, Takei Y. Protein S exacerbates alcoholic hepatitis by stimulating liver natural killer T cells. *J Thromb Haemost*. 2015;13:142-54
12. Wu W, Ichihara G, Hashimoto N, Hasegawa Y, Hayashi Y, Tada-Oikawa S, Suzuki Y, Chang J, Kato M, D' Alessandro-Gabazza CN, Gabazza EC, Ichihara S. Synergistic Effect of Bolus Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles on Bleomycin-Induced Secretion of Pro-Fibrotic Cytokines without Lasting Fibrotic Changes in Murine Lungs. *Int J Mol Sci*. 2014;16:660-76
13. Yamanaka K, Nakanishi T, Saito H, Maruyama J, Isoda K, Yokochi A, Imanaka-Yoshida K, Tsuda K, Kakeda M, Okamoto R, Fujita S, Iwakura Y, Suzuki N, Ito M, Maruyama K, Gabazza EC, Yoshida T, Shimaoka M, Mizutani H. Persistent release of IL-1s from skin is associated with systemic cardio-vascular disease, emaciation and systemic amyloidosis: the potential of anti-IL-1 therapy for systemic inflammatory diseases. *PLoS One*. 2014;9:e104479
14. Hosoki K, Kainuma K, Toda M, Harada E, Chelakkot-Govindalayathila AL, Roen Z, Nagao M, D' Alessandro-Gabazza CN, Fujisawa T, Gabazza EC. Montelukast suppresses epithelial to mesenchymal transition of bronchial epithelial cells induced by eosinophils. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;449:351-6.
15. Toda M, D' Alessandro-Gabazza CN, Takagi T, Chelakkot-Govindalayathil AL, Taguchi O, Roen Z,

- Munesue S, Yamamoto Y, Yamamoto H, Gabazza EC, Morser J. Thrombomodulin Modulates Dendritic Cells via Both Antagonism of High Mobility Group Protein B1 and an Independent Mechanism. *Allergol Int.* 2014;63:57-66.
16. Toda M, Shao Z, Yamaguchi KD, Takagi T, D'Alessandro-Gabazza CN, Taguchi O, Salamon H, Leung LL, Gabazza EC, Morser J. Differential gene expression in thrombomodulin (TM; CD141)(+) and TM(-) dendritic cell subsets. *PLoS One.* 2013;8(8)
  17. Maruyama T, Fujisawa T, Okuno M, Toyoshima H, Tsutsui K, Maeda H, Yuda H, Yoshida M, Kobayashi H, Taguchi O, Gabazza EC, Takei Y, Miyashita N, Ihara T, Brito V, Niederman MS. A new strategy for healthcare-associated pneumonia: a 2-year prospective multicenter cohort study using risk factors for multidrug-resistant pathogens to select initial empiric therapy. *Clin Infect Dis.* 2013;57:1373-83.
  18. Miyake Y, D'Alessandro-Gabazza CN, Takagi T, Naito M, Hataji O, Nakahara H, Yuda H, Fujimoto H, Kobayashi H, Yasuma T, Toda M, Kobayashi T, Yano Y, Morser J, Taguchi O, Gabazza EC. Dose-dependent differential effects of thrombin in allergic bronchial asthma. *J Thromb Haemost.* 2013;11:1903-15.
  19. Iwasa M, Kobayashi Y, Mifuji-Moroka R, Hara N, Miyachi H, Sugimoto R, Tanaka H, Fujita N, Gabazza EC, Takei Y. Branched-chain amino acid supplementation reduces oxidative stress and prolongs survival in rats with advanced liver cirrhosis. *PLoS One.* 2013;8:e70309.
  20. Watanabe F, Hataji O, Ito K, D'Alessandro-Gabazza CN, Naito M, Morooka H, Gabazza EC, Mizutani Y, Ohi M, Takao M, Shimpo H, Yada I. Three-dimensional computed tomography angiography for the preoperative evaluation of coronary artery disease in lung cancer patients. *World J Surg Oncol.* 2013; 11:164.
  21. Naito M, Taguchi O, Kobayashi T, Takagi T, D'Alessandro-Gabazza CN, Matsushima Y, Boveda-Ruiz D, Gil-Bernabe P, Matsumoto T, Chelakkot-Govindalayathil AL, Toda M, Yasukawa A, Hataji O, Morser J, Takei Y, Gabazza EC. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor protects against acute lung injury by inhibiting the complement system. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49:646-53.
  22. Qi L, Toyoda H, Shankar V, Sakurai N, Amano K, Kihira K, Iwasa T, Deguchi T, Hori H, Azuma E, Gabazza EC, Komada Y. Heterogeneity of neuroblastoma cell lines in insulin-like growth factor 1 receptor/Akt pathway-mediated cell proliferative responses. *Cancer Sci.* 2013;104:1162-71.
  23. Yasukawa A, Hosoki K, Toda M, Miyake Y, Matsushima Y, Matsumoto T, Boveda-Ruiz D, Gil-Bernabe P, Nagao M, Sugimoto M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Naito M, Takagi T, D'Alessandro-Gabazza CN, Suga S, Kobayashi T, Fujisawa T, Taguchi O, Gabazza EC. Eosinophils promote epithelial to mesenchymal transition of bronchial epithelial cells. *PLoS One.* 2013 May 21;8(5):e64281.
  24. Hamasaki T, Matsumoto T, Sakamoto N, Shimahara A, Kato S, Yoshitake A, Utsunomiya A, Yurimoto H, Gabazza EC, Ohgi T. Synthesis of <sup>18</sup>O-labeled RNA for application to kinetic studies and imaging. *Nucleic Acids Res.* 2013;41:e126.
  25. Hataji O, Naito M, Ito K, Watanabe F, Gabazza EC, Taguchi O. Indacaterol improves daily physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2013;8:1-5.
-