

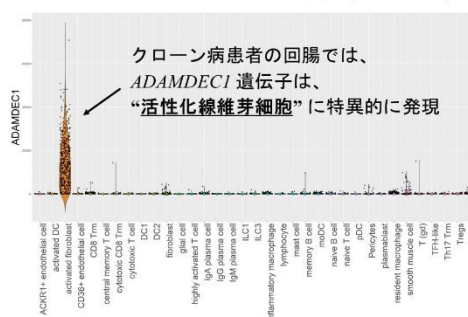
「細胞接着分子を標的としたクローン病腸管狭窄の新規治療開発のための基盤研究」
神戸大学医学部附属病院 渡邊 大輔

1 研究の背景と目的

本研究では、まず始めに、クローン病（以下 CD）腸管線維芽細胞の ADAMDEC1 遺伝子の機能的役割について実験的検証を行った。

研究の背景 CD において、腸管狭窄は患者の予後を決定する最も重要な因子の一つである (Florian Rieder, et al., Gastroenterology 2017)。近年、抗 TNF- α 抗体製剤のみならず、抗インテグリン抗体製剤や JAK 阻害剤、抗 IL-12/23p40 抗体製剤など、次々と新規治療薬が登場した。しかし、炎症に対しての有効性は多く報告されている反面、腸管線維化に関する合併症の発生率には改善がない (PLoS One 2018, e0190999)。腸管線維化に対しては、外科的処置以外に有効な治療がなく、臨床上的大きな課題が残っている。これまで、腸管線維化の病態は、腸管炎症と独立して進行する可能性が指摘されており (Inflamm Bowel Dis 2012, 460-71)、腸管線維化のみを標的とした新たな治療開発が可能と考えられる。線維化において、最も重要な役割を果たす細胞種は腸管線維芽細胞であり、細胞外マトリックス (ECM) を大量に産生し、これら ECM が腸管の間質に異常沈着することで線維化が進行する。近年、米国のブロード研究所の Daniel Graham 博士らのグループによって、腸管において Adamdec1 は、シングルセル RNA シークエンス解析によって分類された 3 つの線維芽細胞サブタイプのうち、収縮特性をもつ筋線維芽細胞の特徴を有する腸管線維芽細胞サブタイプで強く発現していることが示され (Guadalupe J Jasso, et al., PLoS Biol 2022)、CD の腸管線維化との関連が疑われている。しかし、腸管線維芽細胞における ADAMDEC1 の機能については未だ不明である。

シングルセルRNAシーケンス解析 (GSE134809)



研究の目的 本研究では、CD の腸管線維化病態における ADAMDEC1 の機能的役割について始めに明らかにする。

2 研究方法・研究内容

本研究では、臨床データ解析、*in vitro* 実験、プロテオミクス解析、動物モデル、およびヒト組織解析を統合した包括的アプローチを採用した。

- (1) 小児 RISK コホートのトランスクリプトームデータの再解析による検証
- (2) ヒト腸管線維芽細胞 (CCD-18Co 細胞株) を用いた線維芽細胞に対する ADAMDEC1 の機能解析
- (3) DSS 誘導線維化マウスモデル及びヒトの腸管線維化病変における ADAMDEC1 の発現変動の検証
- (4) 腸管線維芽細胞における ADAMDEC1 過剰発現モデルを用いた自己分泌作用のプロテオミクス解析

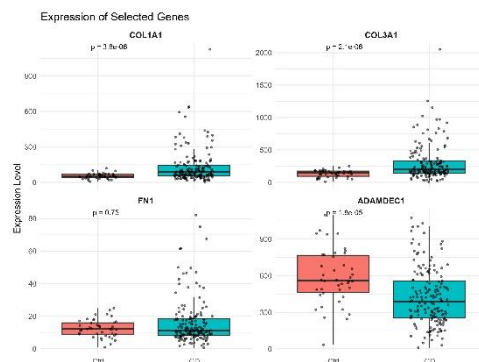
本課題では、まず始めに上記の検討を行い、腸管線維化における ADAMDEC1 の機能的役割を明らかにした。

3 研究成果

本研究の成果は、Biochem Biophys Res Commun 2026, 153749 (Tanabe, Watanabe, et al.) に報告した。

(1) 小児 RISK コホートのトランスクリプトームデータの再解析による検証

CD における ADAMDEC1 と腸管線維化との関連を評価するため、公開トランスクリプトームデータセットを再解析した。RNA-seq データは、NCBI Gene Expression Omnibus (GEO) に登録されている RISK 前向きコホート (GSE57945) から取得した。CD 患者と非 IBD 患者で腸管粘膜内遺伝子の発現を比較したところ、線維化関連マーカー (COL1A1、COL3A1、FN1) は CD 患者で高値を示した一方、ADAMDEC1 の発現上昇は認められなかった (右上図)。



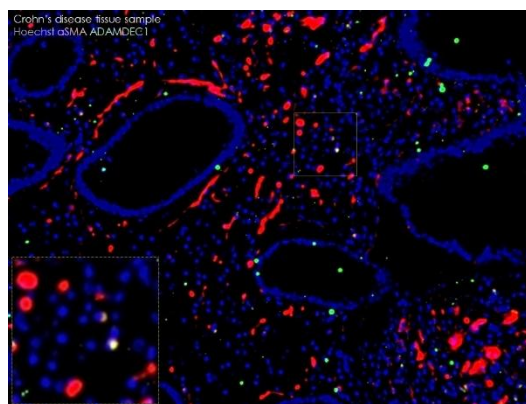
続いて、線維化マーカー間、すなわち COL1A1 と COL3A1、COL1A1 と FN1 の相関、ならびに COL1A1 と ADAMDEC1 との相関を評価した。その結果、COL1A1 発現は COL3A1 および FN1 とは相関したが、ADAMDEC1 とは相関しなかった。

(2) ヒト腸線維芽細胞 (CCD-18Co 細胞株) を用いた線維芽細胞に対する ADAMDEC1 の機能解析

ヒト腸管線維芽細胞株である CCD-18Co 細胞株を用い、TGF- β 刺激により線維芽細胞活性化を誘導した上で、ADAMDEC1 発現の変化を評価した。TGF- β 刺激により、COL1A1、FN1、および CTGF の発現は有意に増加した一方、ADAMDEC1 は誘導されなかった。次に、ADAMDEC1 発現の変化がヒト腸管線維芽細胞の活性化状態に影響を及ぼすかを検討した。リポフェクタミンを用いた ADAMDEC1 の強制過剰発現は、線維芽細胞活性化マーカー (ACOL1A1、ACOL3A1、FN1) の発現に有意な変化をもたらさなかった。

(3) DSS 誘導線維化マウスモデル及びヒトの腸管線維化病変における ADAMDEC1 の発現変動の検証

始めに、腸管線維化マウスモデルにおける ADAMDEC1 発現を評価した。線維化は、野生型マウスにデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を投与することで誘導した。DSS 誘導性線維化大腸では、COL1A1、COL3A1、および FN1 の発現は増加していた一方で、ADAMDEC1 の発現上昇は認められなかった。続いて、CD 患者から外科的に切除された線維狭窄部を用いて、 α -SMA 陽性線維芽細胞における ADAMDEC1 の発現を免疫染色により評価した。その結果、 α -SMA 陽性線維芽細胞における ADAMDEC1 陽性細胞はまれにしか認められなかった (右上図)。



(4) 腸管線維芽細胞における ADAMDEC1 過剰発現モデルを用いた自己分泌作用のプロテオミクス解析

CCD-18Co 細胞株に対し、リポフェクタミンを用いて ADAMDEC1 を過剰発現させ、培養上清の探索的プロテオーム解析を施行したところ、培養上清中の ADAMDEC1 量の有意な上昇を認めたものの、COL1A1 や FN1 の量においては対照群と差を認めなかった。

以上、(1) (2) (3) (4) の結果は、いずれも ADAMDEC1 自身が腸管線維化を悪化させる病態に関わっている可能性が低いことを示し、ニッチ（局所微小環境）特異的な状態マーカーとして機能していることを示唆し、線維性狭窄に対する主要な治療標的となる可能性は低いことを示している。

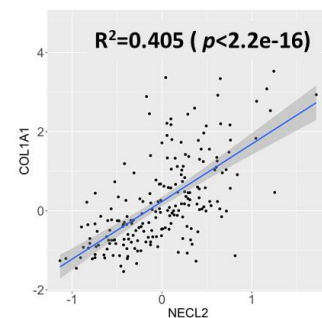
論文報告

ADAMDEC1 Is Not a Driver of Intestinal Fibrosis but a Marker of the Inflammation–Stromal Niche in Crohn’s Disease, Hiroshi Tanabe, Daisuke Watanabe, Misaki Agawa, Hirotaka Nakamura, Tetsuya Yoshizaki, Jun Inoue, Shin Urai, Hironori Bando, Yuzo Kodama, *Biochem Biophys Res Commun* 817, 153749, 2026

以上の結果から、腸管線維化の病態改善のためには、異なる分子を標的とした治療開発が必要と考えられた。そこで続く課題として、細胞接着分子である NECL-2 に着目した。NECL-2 は、接着結合部に局在する接着分子の一つである。最近の報告では、NECL-2 は、NECL-3 と協調し、アストロサイトと軸索間の神経シナプス形成に関連することが明らかにされた (Nozawa et al., *Development* 2023)。また、悪性黒色腫においては、NECL-2 の発現抑制が、上皮間葉転換を促し、腫瘍進展を促すことが報告されている (Hartsough et al., *Cell Death and Disease* 2019)。しかし、これまでに本分子が腸管線維化に関わるという報告はない。

現在、公開トランスクリプトームデータセットを使用した詳細な解析や培養細胞実験、NECL-2 欠損マウスに対する腸管線維化誘導実験を進めており、NECL-2 欠損マウスに対する腸管線維化誘導実験では、対照群と比較して腸管線維化が抑制される可能性があることが確認されている（体重減少の抑制及び腸管長の短縮化）。また、NECL-2 遺伝子の発現抑制腸管線維芽細胞では、線維化関連マーカーの発現抑制が観察されている。これらの結果は、細胞接着分子である NECL-2 の働きによって、腸管線維芽細胞の活性化状態が制御されることを意味する。

NECL-2 と COL1A1 の発現が相関



4 生活や産業への貢献および波及効果

CD の腸管狭窄に対する治療の第一選択は、外科切除、若しくは、内視鏡的拡張術であるが、侵襲性の高さや、内視鏡治療後の再発性の高さが課題であり、新たな治療開発に対する患者の期待度は大きい。本研究で得られる線維芽細胞の新規制御因子の同定は全く新しい治療開発に繋がることから、社会的インパクトが大きい。