

【目的】 血管内皮接着因子 (JCAD : Junctional protein associated with coronary artery disease) は、近年のヒトゲノムワイド関連研究 (GWAS) によって、心筋梗塞に関連する新規の分子として同定された (Eur Heart J. 2011, Nat Genet. 2011)。それと同時期に、我々と共同研究グループは新規接着因子の同定、という全く異なる生化学的アプローチから、独自に JCAD を同定し (BBRC, 2011)、JCAD の生理的機能として、血管新生を制御していることを明らかにした (Hara et al, ATVB, 2018)。JCAD は血管内皮細胞に発現し、VE-Cadherin 依存的に細胞接着部位に局在することを報告したが、JCAD が心筋梗塞を制御する機序は不明である。そのような中で、JCAD はトロンビン刺激でリン酸化修飾をうけることが網羅的解析によって偶然明らかになった (Blood, 2014)。すなわち、JCAD は血管内皮における、トロンビン刺激による血栓形成カスケードを制御することで、心筋梗塞を含む、血栓症の発症に関与しているのではないかと着想した。

【方法】 1. JCAD^{-/-}マウスを用いた血栓症の発症における JCAD の影響の解明：独自に作製した JCAD^{-/-}マウスにおいて、我々が近年、独自に開発した頸静脈結紮モデル (Hara T et al, *Circulation*. 2014) や、wire injury による大腿動脈血栓モデルにより、マウスに血栓を作製した。形成された血栓のサイズを野生型マウスと JCAD^{-/-}マウスで比較することによって、JCAD が静脈および動脈血栓形成を制御することを直接的に明らかにした。2. 培養細胞を用いた JCAD の血栓形成にかかわる分子メカニズムの解明：培養ヒト血管内皮細胞 (HUVEC など) に siRNA 等を用いて JCAD 特異的なノックダウンや過剰発現を誘導し、トロンビン刺激による血管内皮細胞の血栓性変化に関わる影響を分子細胞学的に検討した。具体的にはトロンビン刺激後の組織因子などの血栓性分子の発現変化や、Erk などのシグナル伝達経路を比較した。

【結果】 1. JCAD^{-/-}マウスを用いた血栓症の発症における JCAD の影響の解明：我々と共同研究グループは独自に JCAD を同定し、血管内皮の接着部位に発現することを報告した。さらに、JCAD^{-/-}マウスの作製にも既に成功している。その JCAD^{-/-}マウスにおいて、下大静脈に DVT を作製したところ、JCAD^{-/-}マウスでは大型の DVT が作製された。すなわち、JCAD は抗血栓的に働く分子であることが生体で明らかとなった。2. 培養細胞を用いた JCAD の血栓形成にかかわる分子メカニズムの解明：培養ヒト血管内皮細胞 (HUVEC など) に siRNA 等を用いて JCAD 特異的なノックダウンや過剰発現を誘導し、トロンビン刺激による血管内皮細胞の血栓性変化に関わる影響を分子細胞学的に検討した。VEGF 刺激による ERK のリン酸化は JCAD の特異的なノックダウンにより抑制されたが一方、AKT のリン酸化経路は抑制されなかった。また JCAD 特異的なノックダウンにより VEGFR のリン酸化とその発現レベル自体も抑制された。

JCAD ノックアウトマウスにおける大型 DVT の形成

