自然免疫、サイトカイン産生、 炎症性腸疾患発症を制御する新規ターゲットの解明

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学 助教 **松本 佳則**

背景および目的:

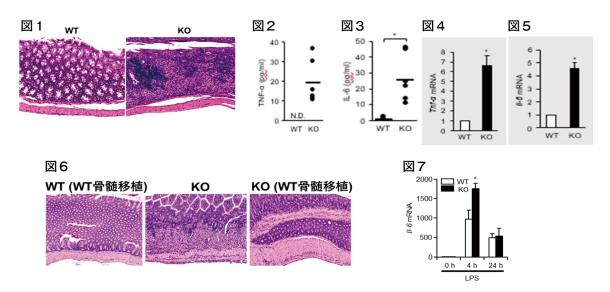
炎症性腸疾患、関節リウマチをはじめとする自己免疫性炎症性疾患は、腸内常在菌や自己または外 来抗原に対する異常な免疫応答により活性化された炎症細胞から、サイトカインやケモカインが異常 産生されることで生じる。近年、 $TNF-\alpha$ やIL-6など炎症性サイトカインの阻害薬が炎症性疾患の主な 治療法の1つとなっているが、その効果は十分でなく、またサイトカイン異常産生の機序も明らかに なっていない。これらの機序を解明することは、治療ターゲットとなる新たな因子の発見に繋がり、 疾病と遺伝的・環境的素因の関係を明らかにする上でも重要である。"SH3BP2 (3BP2)"はpleckstrin homology (PH) ドメインの他、Src homology 3 (SH3) ドメイン含有タンパクに結合するプロリンリッ チ領域や、リン酸化チロシンに結合するSH2ドメインを有し、受容体と細胞内シグナルを仲介するアダ プタータンパクである。2001年、この3BP2の1アミノ酸置換を起こすミスセンス変異が、顔面骨の炎 症を伴う顔面変形、歯牙の脱落を特徴とする遺伝性骨疾患 "チェルビズム" の原因であると初めて報 告された。そこで我々は3BP2が生体内の恒常性維持に重要な因子であると考え、その研究を続けてい る。3BP2はその基質蛋白であるABLチロシンキナーゼを活性化し、骨芽細胞の必須転写因子である RUNX2の転写活性を高めることで骨芽細胞の分化を促進する機序を解明し(1)、3BP2制御因子 RNF146 の単球・マクロファージ分画でのノックアウトマウスは破骨細胞の異常活性化による骨粗鬆 症を呈すること (2)、また骨芽細胞分画でのノックアウトマウスの新生児は致死的な頭蓋骨欠損や肺 胞形成障害を呈することを報告した(3)。今回我々は、3BP2に関連した因子Aを新たに同定し、炎症 性腸疾患発症に関与するAの意義を分子生物学的に検討した。

方 法:

Aノックアウトマウス(KO)を用いて腸管を組織学的に検討する。またサイトカイン産生に関与するToll-like receptor(TLR)経路に着目し、A発現の有無による同経路のシグナルの変化やサイトカイン産生量の変化を野生型(WT)と比較し、Aがサイトカイン産生を制御するメカニズムを解明する。結果:まず我々は、作製したマウスの表現型を明らかにしようと考えた。興味深いことにノックアウトマウスは野生型マウスに比して小さく、炎症細胞浸潤による腸炎を認め、炎症性腸疾患を想起する病態を呈した(図1)。Aが炎症性腸疾患発症に関与する可能性が示唆された。次に炎症を起こす機序を解明した。ノックアウトマウスではTNF- α (図2)やIL-6(図3)など炎症性サイトカインの異常産生を認め、腸管で起こっている炎症の背景に高サイトカイン血症が見られることが示された。ではサイトカインはどこで産生されるのか?ノックアウトマウスから抽出した細胞ではTNF- α /IL-6mRNAの発現増加を認め(図4,5)、これらの変化はTranscriptionalな変化であると考えられた。またこれら炎症性腸疾患の表現型は、WT細胞を骨髄移植することで改善し、骨髄由来の細胞が炎症を起こしている可能性が示唆された(図6)。そこで我々はサイトカイン産生を制御する機序として、TLRシグナルに着目した。ノックアウト細胞ではサイトカイン産生を制御する重要な転写因子NF-kBの核内移行が

促進し、TLRのリガンド(LPS)刺激でWT細胞に比してIL-6発現が増加した(図7)。以上の結果から、Aはサイトカイン産生の亢進を介して炎症性腸疾患を発症させる因子であることが示された。

それではAは骨代謝にはどの様な作用を持つのか?マクロファージは組織球として組織に移行する他、骨吸収を担う破骨細胞にも分化する能力を持つ。そこで我々は、骨髄より分離したノックアウトマクロファージをサイトカインRANKLで刺激し、破骨細胞への分化能や骨吸収能を検討したが、異常亢進/異常吸収を認めた。その結果に矛盾なく、破骨細胞の分化マーカーであるカテプシンK、TRAPのmRNA発現もノックアウト細胞で亢進した。



- (図1) WT及びKOマウスの腸管組織。
- (図2,3) WT及びKOマウスから採取した血清中のサイトカイン濃度。
- (図4,5) WT及びKOマウスから採取した細胞内のサイトカインmRNA量。
- (図6) WT及びKOマウスにWTの骨髄を移植後の腸管組織。
- (図7) WT及びKOマウスから採取した細胞に対するLPS刺激後のIL-6mRNA量。

考察:

以上の結果からAは炎症性腸疾患の発症に関わり、TLRシグナルの感受性増加を介してサイトカイン産生を制御することが明らかとなった。更に破骨細胞分化を亢進し、骨代謝も制御する因子であることが明らかとなった。今後の課題として、TLRを制御する細胞内の分子生物学的メカニズムの解明、骨代謝制御によるマウスでの骨量変化の測定やそのメカニズム、更に炎症性腸疾患患者におけるAの遺伝学的なloss-of-function mutationの有無についても確認する予定である。また阻害剤は今後様々な治療薬に応用すべく研究が進んでいるが、使用量によっては炎症を惹起することになり得るため、使用には注意を要する。本研究の更なる推進にて自然免疫、サイトカイン産生、炎症というライフサイエンスの根本に迫り、これまで不明であったTLRシグナル経路の詳細を解明する。その結果として未だ治癒が困難な難治性腸疾患を我々の世代で克服したい。

引用論文:

- (1) Matsumoto Y, Rottapel R et al. The Journal of Clinical Investigation. 126 (12):4482-4496, 2016
- (2) Matsumoto Y, Rottapel R et al. The Journal of Clinical Investigation. 127 (4):1303-1315, 2017
- (3) Matsumoto Y, Rottapel R et al. The Journal of Clinical Investigation. 127 (7): 2612-2625, 2017