

平野 俊夫

大阪大学・総長

臓器特異的自己免疫疾患・炎症疾患の制御機構の理解とその人為的制御

§1. 研究実施体制

(1)「平野」グループ

- ① 研究代表者:平野 俊夫 (大阪大学・総長)
- ② 研究項目
 - ・研究の方針のディスカッションと決定

(2)「村上」グループ

- ① 主たる共同研究者:村上正晃(大阪大学大学院生命機能研究科、准教授)
- ② 研究項目
 - ・実際の実験の実施と研究の方針決定

1. IL-6 アンブを形成できる細胞、制御する細胞の同定
2. F759 関節炎発症における関節特異的抗原認識の不必要性の証明
3. IL-6 と IL-17 刺激による相乗的 IL-6 発現の分子機構の解明
4. IL-6 アンブのターゲット分子の同定
5. F759 関節炎発症における関節局所での F759 変異の重要性の証明
6. NFkB 信号の解析
7. IL-6 アンブによる糖尿病、肝炎さらに炎症反応の制御
8. Th17 細胞分化に関与する膜タンパクの同定
9. TLR シグナルと自己免疫疾患
10. IL-6 アンブとそのターゲットのイメージング
11. 亜鉛投与マウスでの自己免疫疾患の抑制とそのメカニズム解析
12. 亜鉛トランスポーター欠損マウスでの自己免疫疾患の発症の増悪/抑制とそのメカニズム解析

§2. 研究実施内容

(1) 研究の概要

本研究の目的は、臓器特異的自己免疫疾患の発症機構のメカニズムを解明することである。

また、本研究では、特にヘルパーT細胞等の免疫系の細胞が産生するサイトカインが、非免疫系の細胞に作用した時にどの様に病気を引き起こすかに注目している。

本研究にて見いだした病気誘導のための分子機構として『炎症アンプ』が有る。1型コラーゲン陽性の非免疫系細胞にて NFkB と STAT3 が相乗的に活性化すると大量のケモカインや IL-6 が発現してその場に細胞浸潤を誘導して恒常性が乱れて、臓器特異的な自己免疫疾患が生じると言うものである。活性化したヘルパーT細胞から産生される IL-17Aと IL-6 の刺激による NFkBと STAT3 の相乗的な活性化は非常に効率良く炎症アンプを活性化する。

今年度は以下に示す2つの成果を発表することができた。

1). 私たちが注目する疾患としてはリウマチと多発性硬化症とさらに臓器移植があるが、今年度は臓器移植の実験系にて以下の結果を得た。臓器移植の初期に問題となるのがT細胞のアロジェニックな反応で急性拒絶反応を誘導する。しかし、この反応は免疫抑制剤にて抑制が可能である。しかし、その後問題となるのが慢性拒絶反応である。肺移植では線維化に伴う細気管支の閉塞が生じて肺炎となり、移植を受けた患者の死に至る。私たちは、はじめに、マウス気管移植モデルを用いて研究を行って、慢性拒絶反応への炎症アンプの関与を証明することができた。その後、実際の肺移植後の患者さんのサンプルを用いてマウスモデルでの結果がヒトでも同様であることを証明した。これらの結果から、肺移植後の慢性拒絶時には、炎症アンプは気管上皮基底細胞にて特に活性化して Th1 細胞を集積させる CCL2 を過剰に発現した。さらに、Th1細胞から発現する IFNg が炎症アンプを STAT3 の活性化を介して増強することもわかった。これらの結果は、マウス実験モデルの結果は *J. Immunology* に、ヒト肺移植後の解析結果は *International Immunology* 誌に発表した。

2). 炎症アンプの活性化機構に関与する遺伝子群を同定するために、炎症アンプの正の制御遺伝子と標的遺伝子をゲノムワイドに同定した。これらの遺伝子はそれぞれ1000個以上と500個以上のリストとして得られた。その後、それぞれの遺伝子群を SNPs 解析を元にしたヒト疾患遺伝子データベースと比較したところ、それぞれのリストにはヒト疾患遺伝子が15%ほど存在してコントロールの遺伝子群と比較して、既知のヒト疾患関連遺伝子の存在比が有意に濃縮していることがわかった。その関連疾患も自己免疫疾患ばかりではなく、メタボリック症候群、神経変性性疾患、アトピー、アレルギーを含むその他の炎症性疾患が存在した。言い換えると炎症アンプの関連遺伝子は多くのヒト病気、病態に関与する可能性が非常に高いことがわかった。これらの遺伝子群から炎症アンプの正の制御遺伝子でかつ標的遺伝子でさらにヒト疾患遺伝子の *ErbB1* 遺伝子とそのリガンドの1つであり、炎症アンプの標的遺伝子であったエピレグリンに関して詳細な解析を行った。その結果、エピレグリン-*ErbB1* 経路はマウスとヒト両者において炎症アンプを増強し、さらに、この経路の阻害は関節リウマチモデル、

多発性硬化症モデルの病態形成を有意に阻害した。また、重要なことに関節リウマチ、多発性硬化症、動脈硬化の患者血清中のエピレグリン濃度は健常人のそれに比較して有意に高かった。これら実験結果から、エピレグリンの血清濃度は炎症性疾患の病態を反影する可能性が示され、さらに、エピレグリン-ErbB1 経路の阻害はヒト炎症性疾患の治療標的となりうることがわかった。以上の結果から、炎症アンプの活性化はマウス病態モデルばかりでは無く、ヒトの炎症性疾患に関連することが判明した。これらの結果は *Cell Reports* に発表した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

- 1) Murakami M, Harada M, Kamimura D, Ogura H, Okuyama Y, Kumai N, Okuyama A, Singh R, Jiang JJ, Atsumi T, Shiraya S, Nakatsuji Y, Kinoshita M, Kohsaka H, Nishida M, Sakoda S, Miyasaka N, Yamaguchi-Takahara K, Hirano T. Disease-Association Analysis of an Inflammation-Related Feedback Loop. *Cell Rep.* 2013 Feb 20. pii: S2211-1247(13)00052-1. doi: 10.1016/j.celrep.2013.01.028.
- 2) Sasaki, M., A. Tojo, Y. Okochi, N. Miyawaki, D. Kamimura, A. Yamaguchi, M. Murakami, and Y. Okamura. Autoimmune disorder phenotype in HVCN1 gene deficient mice. *Biochem. J.* 450(2):295-301, 2013 doi: 10.1042/BJ20121188.
- 3) Lee, J.*, T. Nakagiri*, D. Kamimura* (*equal contribution), M. Harada, T. Oto, Y. Susaki, Y. Shintani, M. Inoue, S. Miyoshi, E. Morii, T. Hirano, M. Murakami, and M. Okumura. IL-6 amplifier activation in epithelial regions of bronchi after allogeneic lung transplantation. *Int Immunol.* 2013 Feb 7. [Epub ahead of print]
- 4) Kusu, T., H. Kayama, M. Kinoshita, S. Gyu Jeon, Y. Ueda, Y. Goto, R. Okumura, H. Saiga, T. Kurakawa, K. Ikeda, Y. Maeda, J. Nishimura, Y. Arima, K. Atarashi, K. Honda, M. Murakami, J. Kunisawa, H. Kiyono, M. Okumura, M. Yamamoto, and K. Takeda. Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 7 Controls Th17 Cell Responses through Regulation of Luminal ATP in the Small Intestine. *J Immunol.* 190(2):774-783, 2013 doi: 10.4049/jimmunol.1103067.
- 5) Murakami, M. and T. Hirano. The pathological and physiological roles of IL-6 amplifier activation. *Int. J. Biol. Sci.* 8(9): 1267-1280. 2012 doi: 10.7150/ijbs.4828.
- 6) Murakami, M. and T. Hirano. The Molecular Mechanisms of Chronic Inflammation Development. *Front. Immunol.* 07 October 2012 | 3:323. doi: 10.3389/fimmu.2012.00323

- 7) Yamasaki S., A. Hasegawa, S. Hojyo, W. Ohashi, T. Fukada, K. Nishida, and T. Hirano. A Novel Role of the L-Type Calcium Channel $\alpha(1D)$ Subunit as a Gatekeeper for Intracellular Zinc Signaling: Zinc Wave. PLoS One. 2012; 7(6):e39654 doi: 10.1371/journal.pone.0039654.

(3-2) 知財出願

CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)