

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」  
平成 23 年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告
----------------

安友康二

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

稀少遺伝性炎症疾患の原因遺伝子同定に基づく炎症制御法の開発

## §1. 研究実施体制

### (1) 「安友」グループ

① 研究代表者: 安友 康二 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、教授)

② 研究項目

- ・JASL の炎症誘導機構の解析
- ・家族性寒冷蕁麻疹の原因遺伝子同定研究
- ・その他の家族性炎症性疾患のゲノム解析研究

### (2) 「西岡」グループ

① 主たる共同研究者: 西岡 安彦 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、教授)

② 研究項目

- ・JASL 由来細胞における IL-6 誘導メカニズムの検討

## §2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

### 【研究のねらい】

炎症性疾患の病態には、環境要因に加えて遺伝的要因が大きく寄与することが知られている。従来の研究により、ヒト炎症性疾患の発症に関与する遺伝子群の候補が同定されてきたが、未だヒト炎症性病態を誘導する遺伝的要因についての情報は少ない。その一つの理由は、ヒトは雑多な遺伝的背景を持つために、それぞれの関連遺伝子の病態発症への寄与率が異なることがあげられる。一方、明らかな遺伝的要因によって発症する炎症性疾患の原因遺伝子を同定することは、ヒトの炎症性病態の発症に決定的に寄与する遺伝子群を同定することに結びつくと考えられる。もちろん、稀少な遺伝性疾患の病態が、多因子で発症する疾患の発症あるいは進展機構と直接的に結びつくわけではないが、その原因遺伝子の同定とその関連分子群の機能解析は、ヒト炎症性病態の理解を格段に進展させると考えられる。

以上の背景から、本研究では、稀少遺伝性炎症性疾患を対象として、その原因遺伝子を同定することにより、ヒト炎症性病態の発症に決定的に寄与する遺伝子群を同定することを目的とした。

### 【研究進捗状況と成果】

本研究では、稀少遺伝性疾患の原因遺伝子を同定し、ヒト炎症性病態の分子基盤を解明する事を目的とし、平成23年度には下記の研究項目を実施した(下図参照)。

### 稀少遺伝性炎症疾患の原因遺伝子同定に基づく炎症制御法の開発

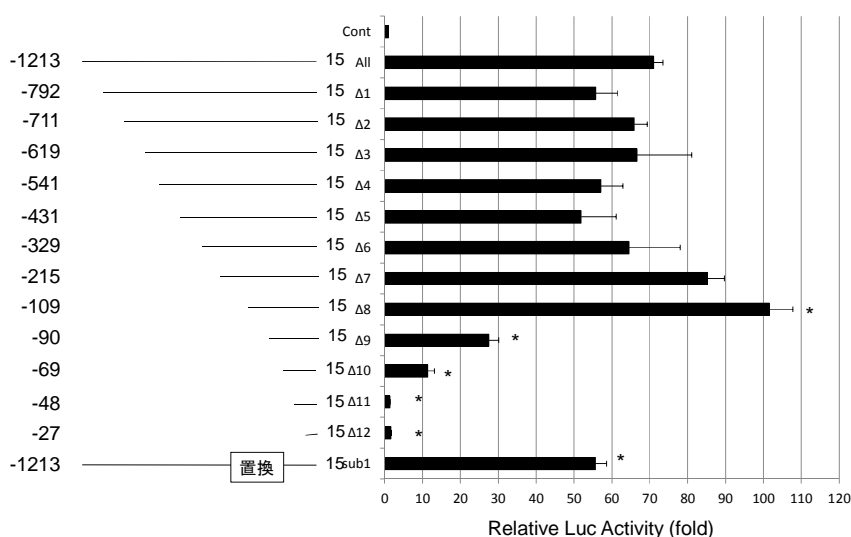


1. JASLの原因遺伝子としてPSMB8を発見
  - (a) PSMB8の発現メカニズムの解析→PSMB8の転写に重要な領域の決定
  - (b) JASLのモデルマウス樹立
  - (c) PSMB8変異による炎症性サイトカイン誘導機構の解析
2. FCASの原因遺伝子同定研究
  - (a) 日本人FCAS家系でのNLRP3とNLRP12領域への連鎖の有無→連鎖は観察されなかった。
  - (b) 連鎖解析、エクソーム解析によるrare variantの解析
3. 他の遺伝性炎症性疾患の原因遺伝子同定研究  
連鎖解析、エクソーム解析により原因遺伝子の同定研究を実施した。

(1) 新規に発見した自己炎症性症候群(JASL)の原因遺伝子である PSMB8 の機能解析

- a. PSMB8 が炎症病態に及ぼす役割を明らかにするために、JASLと同じ変異を持つトランスジェニックマウスの樹立を試みた。変異 PSMB8 遺伝子は MHC クラス II を発現する細胞で、発現するように設計した。
- b. PSMB8 の発現は IFN- $\gamma$  によって誘導されることが知られているが、IFN- $\gamma$  が存在しなくても PSMB8 の発現が観察される。PSMB8 の発現調節機構を解明するために、PSMB8 のプロモーターアッセイを実施した。各種の deletion mutant を作製した結果、翻訳開始部位から -109 から -90 の領域にかけて PSMB8 の転写を調節する重要な領域が存在していると考えられた(下図参照)。その領域には、転写因子の結合が予測される配列が存在することから、それぞれの転写因子との関連性を今後は明らかにすることを計画している。

### PSMB8の転写を調節する領域の解析



- c. JASL 由来の細胞では、インターロイキン 6 (IL-6)の発現が増加していることから、その発現増加メカニズムを検討した。Hela 細胞、CHO 細胞などをプロテアソーム阻害剤で処理したところ IL-6 の発現増加が観察された。その発現増加が、IL-6 の転写調節に影響を与えているかについて現在検討を進めている。

(2) 家族性寒冷蕁麻疹(FCAS)の原因遺伝子同定研究

家族性寒冷蕁麻疹(FCAS)の原因遺伝子としては、*NLRP3* と *NLRP12* が知られているが、2割程度の症例では原因が同定されていない。日本人の家族性寒冷蕁麻疹の 1 家系を用いて、*NLRP3* と *NLRP12* 領域への連鎖解析を実施したが、両領域には連鎖はなかった。つまり、本家系では *NLRP3* と *NLRP12* 以外の遺伝子が FCAS の原因であると考えられた。罹患者、罹患者同胞、両親等のゲノム DNA を用いて、全ゲノム連鎖解析を実施した。小さい家系である

ために、2 を超える LOD 値を示す領域は存在しなかった。次に、次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析を実施したところ、候補となる変異は3個に絞られた。そのうちの一つの遺伝子(FCAS4)に存在する変異は、その遺伝子の機能ドメインに存在し、かつ種を超えて保存されている領域であった。一方、他の二種類は、種を超えて保存されている領域には存在しなかった。FCAS4 はマクロファージや樹状細胞に高く発現していることから、FCAS4 が原因遺伝子であると考えられた。

- (3) それ以外の2種類の遺伝性炎症性症候群については現在、全ゲノム連鎖解析、エクソーム解析を実施中である。

#### 【今後の見通し】

JASL については、動物モデルを樹立して免疫プロテアソームの機能異常がどのように炎症病態を引き起こしているかについて個体レベルで明らかにすることが最も重要な課題である。平成 24 年度には動物モデルを用いてその課題に取り組むことができると思われる。さらに、PSMB8 の IFN- $\gamma$  に依存しない発現調節機構を解明する事が、免疫プロテアソームが持つ抗炎症の生理的役割を解明する事に結びつくと思われる。PSMB8 の転写に重要な領域は明らかにすることができたため、平成 24 年度以降にはその詳細な分子機構の解明を目指す研究を実施する。

FCAS については候補遺伝子の同定研究を実施し、原因と思われる遺伝子を見いだした。その遺伝子の生化学的解析および動物モデルを用いた個体レベルでの解析を実施することで、病態に及ぼす影響を明らかにできると思われる。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### ●論文詳細情報

1. Aono Y, Ledford JG, Mukherjee S, Ogawa H, Nishioka Y, Sone S, Beers MF, Noble PW, Wright JR. Surfactant protein-D regulates effector cell function and fibrotic lung remodeling in response to bleomycin injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 185:525-36 (2012).