

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18591133

研究課題名 (和文)

自然免疫系を介した難治性肉芽腫形成疾患の新規治療法開発

研究課題名 (英文)

Therapeutic development of intractable granulomatous disease by innate immune system

研究代表者

田辺 剛 (TANABE TSUYOSHI)・島根大学・医学部・准教授

研究者番号：80260678

研究成果の概要：

難治性肉芽腫形成疾患の病態を解析し、治療法の基盤を形成することを目指した。サルコイドーシスの発症機構として、Nod1 の機能低下型変異による細胞内寄生型アクネ菌への応答不全であることを明らかにした。また Nod2 の機能低下に関して、白血病とは関連するが、クローン病と重症 GVHD の発症には影響しないことを明らかにした。また Nod family の機能制御因子として、癌抑制因子と活性酸素制御因子を同定し、治療法開発の基盤を形成するとともに、感染と悪性腫瘍発症の関連の分子機構を明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,700,000	0	1,700,000
2007 年度	900,000	270,000	1,170,000
2008 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	510,000	3,910,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：Nod family、サルコイドーシス、クローン病、GVHD、自然免疫

1. 研究開始当初の背景

クローン病やサルコイドーシスを代表とする難治性肉芽腫形成疾患は、30 年前よりも罹患率が数十倍に増加し、大きな問題となっている。原因としては食生活の欧米化が想定されているが、詳細は不明である。また治療に関しても、食事療法や非特異的な炎症の抑制が試みられているものの、効果は全く十分とは言えない現状である。

私どもは自然免疫因子 Nod2 の機能変化がクローン病の発症に関連することを報告してきた。

難治性肉芽腫形成疾患の分子病態解析の解明による特異的治療法の開発が必至な状況である。

細胞内寄生菌のセンサーである自然免疫因子 Nod family は、獲得免疫系の活性化に必須であり、免疫応答全般にきわめて重要である。これまで Nod family と疾患との関連の分子機構とシグナル伝達機構について解析を進めていた。

(1) 疾患との関連

Nod2 の機能低下がクローン病を、逆に機能亢進が若年型サルコイドーシスを発症す

ることを明らかにしていた。これは自然免疫因子の異常が疾患発症につながる最初の知見である。

(2) シグナル伝達機構

Nod2 に関して、約 600 種類の変異体を random mutagenesis により作成し、機能と比較することで、シグナル伝達機構を明らかにした。ここで疾患発症につながる変異を多く同定し、遺伝子診断パネルとして臨床診断に広く応用した。

これまで自然免疫系のシグナル応答を制御する治療が試みられてきたが、対象となる因子が特定できていなかったため、分子機構に基づく有効な制御法が無い点が問題だった。

さらに近年自然免疫因子を介した獲得免疫系の制御により、自己免疫能や抗腫瘍免疫能をコントロールする治療法が試みられているが、LPS 等の菌体成分を用いるため、臨床応用に適していなかった。

自然免疫系は、それぞれの自然免疫因子が相互に複雑なネットワークを形成して機能していると考えられる。

クローン病は自然免疫因子の欠損が病因である最初に報告された疾患であるが、病態生理については未だ不明な点が多い。肉芽腫形成疾患の解明には、自然免疫因子間相互作用の解明と自然免疫シグナル伝達系中のさらに多くの因子の同定とその解析が必須である。

2. 研究の目的

(1) 難治性肉芽腫形成疾患の発症機能を明らかにする。

(2) Nod family 関連疾患の病態を解析する。Nod family のシグナル制御による新規治療法開発の基盤形成を行う。

(3) 自然免疫シグナル伝達系因子の単離

これまで TLR や Nod family のシグナル伝達系で、下流の因子は同定が進んでいるが、本研究ではリガンド認識機構を含む上流についてさらに新規の因子を同定し、解析を行う。

3. 研究の方法

(1) サルコイドーシスの原因菌と原因遺伝子を同定する。

(2) 本邦のクローン病と重症 GVHD の発症に対する Nod family の関与を解析する。

(3) 活性制御による治療法開発の標的因子として、Nod family の活性の制御に関わる因子を同定する。

(4) 悪性腫瘍発症への Nod family の機能異常の関連を明らかにする。

4. 研究成果

新しい自然免疫関連疾患の分子病態解析として、サルコイドーシスの原因菌と原因遺伝子の同定を行った。

さらに日本人特有の Nod2 SNP の一つが機能低下型であることを明らかにした。この成果を応用し、日本人のクローン病と重症 GVHD の Nod2 遺伝子変異解析を行ったところ、欧米とは全く異なる結果を得た。

さらに Nod family 活性制御因子として同定したのは、大変驚くべき事に癌抑制因子と活性酸素制御因子であった。

この結果、従来不明であった細菌感染と悪性腫瘍発症の関連のメカニズムを分子機構から明らかに出来た。

(1) サルコイドーシスの解析

サルコイドーシスの発症機構として、Nod1 の機能低下型変異による細胞内寄生型アクネ菌への応答不全であることを明らかにした。

① 頻度の高い自然免疫関連疾患の分子病態解として、原因菌の同定は世界初の例であり、たの関連疾患の原因菌同定にも大きな意義を持つ。

② 自然免疫関連疾患の原因遺伝子の同定はクローン病に次ぐものであり、分子病態機構の解明に貢献した。

クローン病は炎症性疾患であるが、同定された Nod2 の異常は炎症反応が低下する変異だった。この知見は、自然免疫関連疾患のパラドックスとして、様々な解釈がなされるとともに、自然免疫関連疾患全般に共通して認められる機構かどうか、興味が持たれていた。

この時点での自然免疫関連疾患の発症機構としては、最初に進入した菌体に対して、変異型 Nod2 が応答できないために、初期の感染防御が出来ず、感染が拡大したために、Nod2 以外の Toll like receptor 等の自然免疫因子が応答して炎症反応を誘導し、最終的に肉芽腫形成疾患の発症をもたらす機序が想定されていた。

今回の成果から、クローン病と並んで頻度の高い自然免疫関連疾患であるサルコイドーシスにおける Nod1 変異も機能低下型であったことから、自然免疫因子の炎症反応が変異に伴って低下することにより、最終的に炎症性疾患の発症につながる事が、自然免疫関連疾患一般に共通して認められることが明らかになった。

このため現在では、自然免疫関連疾患の発症機構は、自然免疫因子の炎症誘導反応の低下によるものではなく、ベータデフェンシン等の抗菌物質の産生が低下して、病原菌の駆逐能が低下することに起因することが想定されるようになった。

(2) Nod2 の機能変化型 SNP を同定した。

これまで欧米で認められた Nod2 機能低下型変異が日本の症例では認められないため、

日本人には Nod2 の機能低下型変異がないのか、機能が低下していてもクローン病や重症 GVHD の発症と関連がないのかが不明だった。新しく Nod2 機能低下型 SNP を日本人集団で同定したことから、本邦における自然免疫関連疾患の発症機序の分子病態解析が可能となった。

(3) 欧米と異なり、本邦のクローン病と重症 GVHD は、Nod2 の機能低変化との関連しないことを明らかにした。

本研究の成果により、日本人集団では Nod2 の機能が低下しても発症には影響しないことが明らかになり重症 GVHD が本邦では頻度が低い原因を説明する結果となった。

(4) Nod2 の機能低下と白血球発症の相関を明らかにした。これまで報告のない、新しい関連疾患である。

次項で得た成果である感染免疫機構と癌抑制機構の関連の分子機構の異常が、悪性腫瘍発症に影響することを証明する結果となった。

(5) Nod family の機能制御因子として、癌抑制遺伝子と活性酸素制御因子を同定した。

①細菌感染と悪性腫瘍発症が関連することは従来から現象として認められていた。しかしその現象に関与する分子機構や、関与する因子の同定は行われていなかった。

今回の成果は、自然免疫系と癌抑制因子の直接的な相互作用という新しい機序を明らかにした。

これまで自然免疫系を介した悪性腫瘍の抑制のメカニズムは、獲得免疫系を介した抗腫瘍免疫能の活性化が想定されていた。このため、自然免疫因子のリガンドの投与による抗腫瘍免疫能の活性化が試みられているが、十分な成果は上がっていない。今回の成果から、自然免疫系と癌抑制因子の直接作用を強化するという新しい治療メカニズムを想定し、実現に向けて準備を開始している。

またクローン病やサルコイドーシスなどの自然免疫関連疾患の発症だけでなく、悪性腫瘍の発症に関しても、活性酸素は大きな役割を果たしている。

今回の成果で自然免疫系と活性酸素制御が直接関連することも明らかになり、新規の病態機序を解明できた。これらの因子の変異解析により新規診断法の確立につながる事が大いに期待できる。

②自然免疫系の制御を介した新規治療法において、今回同定した因子が標的となるため、治療法開発の基盤形成を行うことが出来た。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

①Uchida T, Kakamu T, Tanabe T, Amano H, Fujita Y.、Relationship between Number of Steps, Weather Factors, and Clinical Test Findings in Participants of the “Health Up” Model Program in Okuizumo, Shimane Prefecture、Shimane Journal of Medical Science、vol.25、p.13-17、2009、査読有

② Yanagie H, Tanabe T, Sumimoto H, Sugiyama H, Matsuda S, Nonaka Y, Ogiwara N, Sasaki K, Tani K, Takamoto S, Takahashi H, Eriguchi M.、

Tumor growth suppression by adenovirus mediated introduction of a cell growth suppressing gene tob in a pancreatic cancer model.、Biomedicine & Pharmacotherapy、Equip ahead of print、2008、査読有

③Kunisaki R, Ikawa S, Maeda T, Nakazaki random mutagenesisY, Kurita R, Harata M, Shutoh Y, Bai YS, Soda Y, Tanabe T, Dohi T, Kato R, Ikawa Y, Asano S, Tani K.、p51/p63, a novel p53 homologue, potentiates p53 activity and is a human cancer gene therapy candidate.、Journal of Gene Medicine、vol. 8、p. 1121-1130、2006、査読有

④Tanabe T, Ishige I, Suzuki Y, Aita Y, Furukawa A, Ishige Y, Uchida K, Suzuki T, Takemura T, Ikushima S, Oritsu M, Yokoyama T, Fujimoto Y, Fukase K, Inohara N, Nunez G, Eishi Y.、Sarcoidosis and NOD1 variation with impaired recognition of intracellular Propionibacterium acnes.、Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of disease、vol.1762、p.794-801、2006、査読有

[学会発表] (計 6 件)

①山口 奈津, 田邊 剛, 大城 等, 中林 愛恵, 天野 宏紀, 各務 竹康, 本間 良夫, 藤田 委由, 島根県における膵がん標準化死亡比 (SMR) の年次推移と地域特異性、第 19 回日本疫学会学術総会 2009. 1. 23.、金沢

②田邊 剛, 山口 奈津, 各務 竹康, 天野 宏紀, 藤田 委由。難治性免疫関連疾患のスクリーニングにおける自然免疫因子 Nod family の解析、第 67 回日本公衆衛生学会総会、2008. 11. 6.、博多

③田邊 剛, 江石 義信, 山口 奈津, 各務 竹康, 天野 宏紀, 藤田 委由。自然免疫因子 NOD1 の機能低下によるサルコイドーシスの発症、日本人類遺伝学会第 53 回大会、2008. 9. 29.、横浜

④田邊 剛, 江石 義信, 會田 雪絵, 山口 奈津, 各務 竹康, 天野 宏紀, 藤田 委由。自然免疫 NOD1 の機能低下によるサルコイドーシスの発症、第 78 回日本衛生学

会総会、2008.3.31、熊本

⑤田辺 剛, 猪原 直弘, 石下 郁夫, 會田 雪絵, 鈴木 好美, Gabriel Nunez, 江石 義信、サルコイドーシスにおける Nod ramily 遺伝子異常の同定と発症への関与の解析、第 6 回あわじしま感染免疫フォーラム、2006.9.5.、淡路島

⑥鈴木 好美, 田辺 剛, 石下 郁夫, 江石 義信, 生島 壮一郎, 武村 民子, 中澤 さやか, 小池 盛雄、サルコイドーシス疾病素因としての NOD1 遺伝子多型解析およびその機能に関する検討、第 95 回日本病理学会総会、2006.5.2.東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田辺 剛 (TANABE TSUYOSHI)
島根大学・医学部・准教授
研究者番号：80260678

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：