

令和 4 年 4 月 17 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08911

研究課題名(和文) ベーチェット病におけるインフラマソーム活性化機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of mechanisms of inflammasome activation in Behcet's disease

研究代表者

三苦 弘喜 (MITOMA, HIROKI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：60467909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ベーチェット病では血清IL-1b、IL-18は正常または軽度上昇にとどまっていた。末梢血単球ではintermediate monocytesで最も強いcaspase-1の活性化がみられたが、健常人と優位差はなかった。全身性エリテマトーデス症例は末梢血単球caspase-1が活性化し、血清IL-18が高値であった。ベーチェット病ではインフラマソームの活性化は炎症組織に局限している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インフラマソームは単球、マクロファージなどの細胞に存在する生体防御機構であるが、それが過剰に活性化すると炎症病態を誘導する。全身性エリテマトーデスの末梢血単球でインフラマソームの活性化がみられた。ベーチェット病では末梢血単球のインフラマソームの活性化はみられなかったものの、組織で活性化している可能性がある。現在のところ臨床応用されているインフラマソーム阻害薬はないが、その開発が自己免疫疾患の新規治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In Behcet's disease, serum IL-1b and IL-18 remained normal or mildly elevated. Intermediate monocytes showed the strongest activation of caspase-1 in monocytes, however there was no significant difference from healthy subjects. In the case of systemic lupus erythematosus, caspase-1 in peripheral blood monocytes were activated and serum IL-18 was elevated. In Behcet's disease, activation of the inflammasome may be confined to inflamed tissue.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：インフラマソーム カスパーゼ ベーチェット病

1. 研究開始当初の背景

ベーチェット病 (BD) は再発性の皮膚粘膜症状、ぶどう膜炎、腸管・血管・神経等の内臓病変を呈する慢性炎症性疾患である。一方で家族性地中海熱 (FMF)、クリオピリン関連周期熱症候群 (CAPS)、TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) 等の自己炎症症候群は一つの遺伝子異常に起因し、自然免疫系の制御異常により周期性の発熱、臓器の炎症を繰り返す疾患群である。近年、両疾患で TNF 阻害剤や IL-1 β 阻害剤が有効であることが示され、炎症性サイトカインが病態形成に重要であること、両疾患の病態に類似性があることが明らかとなった。特に IL-1 β 阻害剤は TNF- α 阻害剤抵抗例においても高い奏効率を示し(本邦では保険未承認)、IL-1 β は病態の中心的役割を担っていると考えられる。細胞内の前駆型 IL-1 β はインフラマソームによって切断され活性化型として細胞外へ放出される。インフラマソームは pathogen associated molecular patterns (PAMPs) や damage-associated molecular patterns (DAMPs) を認識し、IL-1 β 、IL-18 の切断・分泌と pyroptosis と呼ばれる細胞死を誘導する細胞質内タンパク複合体で NLRP3、AIM2、NLRC4、NLRP1、Pyrin インフラマソーム等がある。自己炎症症候群は責任遺伝子が明らかとなっており、その遺伝子がコードする Pyrin、NLRP3、TNF1 型受容体等の分子の機能解析から、それぞれの疾患において IL-1 β の産生機序の解明が進んでいる。一方 BD では、血清 IL-1 β の上昇が報告されておりインフラマソームの活性化が推測されているが、その活性化を直接的に示した報告はなく、どの細胞からどのような機序で IL-1 β が誘導されるかは未だ不明である。また BD では炎症組織への好中球浸潤から好中球の活性化が病態に関与していると考えられてきた。2018 年に BD の炎症組織では neutrophil extracellular traps (NETs)を放出する細胞死である NETosis が亢進していることが報告された。NETosis は細菌感染、内在性因子等が刺激になり、NETs の性状は刺激毎に異なっていることが明らかとなっている。BD の炎症の主座の多くは皮膚、口腔、腸管、陰部など外界と接する臓器であることから、何らかの感染、PAMPs または DAMPs が炎症のトリガーになっていると考えられる。さらに 2011 年にマウスのマクロファージの細胞質内で LPS を caspase-11 がセンシングする non-canonical なインフラマソーム経路が報告された。その後 caspase-11 遺伝子を持たないヒトでは caspase-4 または 5 が同経路を担っていることが明らかとなった。Caspase-4 は元来 ER ストレスに関わる分子として報告されており、TRAPS では ER ストレスが IL-1 β 分泌のトリガーと考えられていることから、caspase-4/5 が IL-1 β 分泌に関連している可能性がある。また 2018 年になり細菌感染で non-canonical インフラマソーム経路の活性化が好中球の NETosis を誘導することがマウスで報告された。また FMF の発作期に好中球からの IL-1 β 産生と NETosis が亢進していることが明らかとなっている。ヒトでもインフラマソームの活性化が好中球で起こりうること、インフラマソームと NETosis が関連している可能性があることを示唆している。

2. 研究の目的

BD においてどの細胞で non-canonical 経路を含めたどのインフラマソームが活性化しているのか、BD の好中球において NETosis がどのようなメカニズムで亢進しているのか、という問いを解決することで BD の病態がより明らかになると考えられる。BD の IL-1 β 産生と好中球活性化のメカニズムを解明し、新規治療法の可能性を見出すことを目的とする。

3. 研究の方法

BD 患者検体(末梢血液、生検組織)疾患コントロールとして全身性エリテマトーデス (SLE) の末梢血液を用いて、どの細胞でインフラマソームが活性化して IL-1 β を産生するのかを同定する。細胞が同定できれば、その細胞を純化し、non-canonical を含めたどのインフラマソームが活性化しているかを解析する。また好中球における NETosis および non-canonical インフラマソームの活性化を検討し、2つの経路の関連性を解析する。以上より BD におけるインフラマソームと好中球の活性化のメカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

BD 症例で炎症期および非炎症期の末梢血単球の caspase-1 活性化を解析した。一部の炎症期症例では軽度の血清 IL-1 β の上昇と単球 (特に intermediate monocytes) の caspase-1 の活性化がみられたが、健康人や非炎症期症例と比較して統計学的に有意な差はなかった。また全身性エリテマトーデス (SLE)症例の血清は健康人単球の caspase-1 活性化を誘導したが、ベーチェット病の血清は誘導しなかった。SLE 血清で培養した健康人単球は caspase-1 の活性化が誘導され、LPS 刺激後の IL-1 β 分泌が亢進したことから、caspase-1 の活性化は機能的と考えられた。SLE 末梢血単球の caspase-1 活性化の程度は血清抗二本鎖 DNA 抗体価と正の相関が、血清 C3 値と負の相関がみられ、疾患活動性が高いほど caspase-1 活性化が高い傾向にあった。その誘導は NLRP3 阻害剤で抑制されたことから、NLRP3 インフラマソームの活性化を介していると考えられた。さらに、cGAS および STING の阻害剤でも caspase-1 の活性化は抑制された。SLE 血清のインフラマソーム活性化因子を同定することはできなかったが、microparticles や二本鎖

DNA が重要であることが示唆された。SLE 末梢血単球からは IL-18 の分泌はみられなかったことから、SLE 血清の IL-18 上昇は単球由来ではなく、組織のマクロファージに由来するものと考えられた。そこで血球貪食症候群の骨髄マクロファージを解析したところ、顕著な caspase-1 の活性化がみられた。同病態ではインフラマソーム活性化マクロファージから IL-18 が分泌され、血清中の IL-18 が著増していると考えられた。マクロファージは全般に caspase-1 が活性化しており、M1 や M2 マクロファージなど特定の分画への偏りはなかった。マクロファージは pyroptosis に陥っており、インフラマソーム複合体が細胞外へ放出され、それを取り込んだマクロファージのインフラマソームが活性化していくことが考えられた。以上より、疾患、病態毎にインフラマソームが活性化している細胞と場所は異なることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Inokuchi Shoichiro, Mitoma Hiroki, Kawano Shotaro, Nakano Shota, Ayano Masahiro, Kimoto Yasutaka, Akahoshi Mitsuteru, Arinobu Yojiro, Tsukamoto Hiroshi, Akashi Koichi, Horiuchi Takahiko, Niino Hiroaki	4. 巻 204
2. 論文標題 Homeostatic Milieu Induces Production of Deoxyribonuclease 1?like 3 from Myeloid Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 2088 ~ 2097
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.1901304	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------