

機関番号：87301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008 ~2010

課題番号：20591197

研究課題名 (和文) CRYOPYRIN を標的とした新しい炎症制御法の開発

研究課題名 (英文) Targeting cryopyrin as a new therapeutic approach to control inflammation

研究代表者

右田 清志 (MIGITA KIYOSHI)

独立行政法人国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター・病因解析研究部長

研究者番号：60264214

研究成果の概要 (和文) : インフラマゾームの活性化と IL-1 β の産生が、自己炎症の主な病態であるが、そのメカニズムは充分解明されていない。関節リウマチ (RA) 滑膜細胞を用いて自己炎症の機序について検討した。RA 滑膜細胞を NLRP3 のリガンドである MSU (modosodium urate) で刺激しても IL-1 β は誘導されないが、低濃度の血清アミロイド A 蛋白 (SAA) で前処理すると IL-1 β の産生が誘導された。さらに SAA は、RA 滑膜細胞の NLRP3 の発現を誘導した。本研究結果により、SAA により、NLRP3 の発現が誘導され、MSU によるインフラマゾームの活性化が促されて活性型 IL-1 β が誘導できることが明らかになった。

研究成果の概要 (英文) : The mechanism by which inflammasome activation and following IL-1 β induction in autoinflammation is not completely elucidated. We studied the role of serum amyloid A (SAA) in the regulation of IL-1 β production and activation of inflammasome cascade in human rheumatoid synoviocytes. Rheumatoid synoviocytes stimulated with SAA express NLRP3 (cryopyrin) mRNA expression. MSU (modosodium urate), a ligand for NLRP3, stimulation did not induce IL-1 β production in rheumatoid synoviocytes. Whereas, rheumatoid synoviocytes pretreated with low concentration (1-5 μ g/ml) of SAA produce IL-1 β in response to MSU. These findings indicate that during systemic inflammation, SAA may promote the MSU-induced IL-1 β induction through activating the NLRP3 inflammasome activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、膠原病・アレルギー内科学

キーワード：Cryopyrin、自己炎症性疾患、家族性地中海熱、関節リウマチ、血清アミロイド A 蛋白

1. 研究開始当初の背景

自己炎症性疾患は、自己抗体、自己反応性

T 細胞を認めず、反復する炎症を主徴とする疾患である。これら疾患はインフラマゾーム

を介した IL-18 の活性化が大きな役割を果たしている。インフラマゾームは、cryopyrin (NLRP3) が NOD ドメインを介し、重合化することにより活性化され、最終的に活性型の IL-18 が産生され、炎症が誘起される。近年、若年性特発性関節炎などの慢性炎症性疾患において、インフラマゾーム活性化に伴う IL-18 の産生が、病態の中心であることが明らかにされ、通常の炎症性疾患にも大きく関与していることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、インフラマゾームの主な構成分子である cryopyrin (NLRP3) を標的とした新たな抗炎症療法を開発することを研究目的とした。具体的には、炎症性疾患の代表である関節リウマチ (RA) の炎症滑膜細胞を用い、インフラマゾームの活性化機構の解明、その制御法について検討した。

3. 研究の方法

(1) RA 滑膜細胞は、RA 滑膜より分離、培養した。

(2) NLRP3 の mRNA の発現は、RT-PCR 法を用い検討した。

(3) 活性型 IL-18 の検出は、活性型 IL-18 に対する抗体を用いたイムノブロットで検討した。

4. 研究成果

(1) RA 滑膜細胞は、無刺激の状態では、NLRP3 の mRNA 発現は極めて弱いが生理的濃度の SAA (血清アミロイド A 蛋白) の刺激で NLRP3 の mRNA の発現が誘導された。

(2) RA 滑膜細胞を NLRP3 のリガンドである MSU (monosodium urate) で刺激しても活性型の IL-18 は誘導されなかった。

(3) RA 滑膜細胞を SAA で前処理、MSU で刺激すると活性型 IL-18 の産生が誘導された。

(4) Caspase-1 の阻害剤である ZVAD で RA 滑膜細胞を前処理することで、SAA、MSU 刺激による活性型 IL-18 の産生は阻害された。

これまでにインフラマゾームの活性化には、LPS などの菌性成分の刺激による TLR の活性化や ATP による P2X7 受容体の活性化が、前段階で必要とされてきた。本研究結果により、低濃度の SAA (1~5µg/ml) により、NLRP3 の発現が誘導され、インフラマゾームの活性化が促進され、活性型 IL-18 が誘導できることが明らかになった。今回用いた SAA の濃度は、慢性炎症性疾患、ウイルス感染等で充分到達可能な濃度であり、生体は常にインフラマゾームが活性化される状態にあり、NLRP3 のリガンド等により、活性型 IL-18 が誘導され炎症が起こることが明らか

になった。

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)

1. Koga T, Umeda M, Migita K, Yamasaki S, Nakamura H, Kawakami A. A Japanese case of familial Mediterranean fever presenting diffuse bone marrow uptake of FDG-PET and high levels of neutrophil membrane CD64 expression. Rheumatology (Oxford). 2011 Jun;50(6):1171-3. 査読有.
2. Migita K, Torigoshi T, Motokawa S, Ito M, Miyashita T, Izumi Y, Yasunami M. Protracted synovitis without systemic manifestations in familial Mediterranean fever (FMF). Clin Exp Rheumatol. 2010 Jul-Aug;28(4 Suppl 60):S99. 査読有.
3. Migita K, Nakamura T, Maeda Y, Miyashita T, Koga T, Tanaka M, Nakamura M, Komori A, Ishibashi H, Origuchi T, Ida H, Kawasaki E, Yasunami M, Eguchi K. MEFV mutations in Japanese rheumatoid arthritis patients. Clin Exp Rheumatol. 2008 Nov-Dec;26(6):1091-4. 査読有.
4. 上松一永, 右田清志. 家族性地中海熱. 医学のあゆみ 2010, 235 (12,13) :1159-1163. 査読有.

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

右田 清志 (MIGITA KIYOSHI)
独立行政法人国立病院機構長崎医療セン
ター・臨床研究センター・病因解析研究部
長
研究者番号：60264214

(2)研究分担者

石橋 大海 (ISHIBASHI HIROMI)
独立行政法人国立病院機構長崎医療セン
ター・臨床研究センター・センター長
研究者番号：80127969

(3)研究分担者

江口 勝美(EGUCHI KATUMI)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：30128160