

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 1日現在

機関番号：14401  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21390120  
 研究課題名（和文）炎症ストローマの人為的コントロールによる難治性慢性炎症疾患群の制御  
 研究課題名（英文）Controlling of chronic inflammatory diseases via regulation of inflammation stroma cells

研究代表者  
 村上 正晃（MURAKAMI MASAOKI）  
 大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授  
 研究者番号：00250514

研究成果の概要（和文）：  
 私たちは本研究費を用いた実験から、炎症ストローマ細胞の定義を IL-6 および IL-17 などの NFκB および STAT3 刺激にて大量のケモカインを発現する非免疫系の細胞とした。炎症ストローマは 1 型コラーゲン陽性の細胞で、これまでに血管内皮細胞、線維芽細胞、アストロサイト、上皮細胞が含まれることが判った。特筆すべき結果は血管内皮細胞が過剰な交感神経刺激を受けた場合に炎症ストローマとして機能して自己反応性 T 細胞の中枢神経系への侵入口を形成することを証明できた点である。

研究成果の概要（英文）：  
 We defined the inflammation stroma cells as cells having excessive chemokine production after NFκB and STAT3 stimulation. The inflammation stroma cells have type 1 collagen molecules and include endothelial cells, fibroblasts, astrocytes, and epithelial cells. The main finding in this project is that excessive activation of the inflammation stroma cells by an excessive neural activation particularly via sympathetic neuron's creates a gateway for immune cells in blood vessels including autoreactive CD4+ T cells followed by the development of an autoimmune disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2010 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2011 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：医歯薬学  
 科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学  
 キーワード：炎症、非免疫系細胞、サイトカイン、IL-6

1. 研究開始当初の背景

炎症は、急性炎症と慢性炎症に分けることができる。慢性炎症が多くの病気の病因に関与している事は、既知の事実であり、その疾患の本体が慢性炎症である難病の“慢性炎症性脱髄性多発根神経炎”から、より一般的な

メタボリックシンドロームの“動脈硬化”まで存在する。しかし、慢性炎症の発症起点、その経過の人為的なコントロール、つまり、慢性炎症の治療は、今日でも非常に難しい。有効な治療薬は、1930年に抽出された副腎皮

質ホルモンの誘導体のみと言っても過言ではない。その原因の一つは、治癒可能な急性炎症から、難治性の慢性炎症を誘導する細胞・分子機構の解明が不明である事が大きな要因である。

我々は、臓器特異的な自己免疫疾患の発症機序の研究から、(1) 抗原認識による制限が高い、多発性硬化症のマウスモデルでも、(2) 抗原認識による制限が低い、膠原病、関節リウマチのマウスモデルでも線維芽細胞のNFkB と STAT3 による異常な活性化が、疾患の重症化に大きく関与している事を発見し、**自己免疫疾患一般の誘因として、線維芽細胞のIL-17-NFkB と IL-6-STAT3 による異常な活性化とそれに引き続くサイトカイン産生ループの暴走があることを証明し報告してきた。**さらに、人為的に NFkB と STAT3 が活性化された線維芽細胞は、(1) 少なくとも試験管内にて増殖速度が増加する事、(2) 他の炎症性細胞を呼び寄せる活性があること、(3) 炎症局所においてサイトカインを高発現する線維芽細胞集団が増加している事を見いだしている。

## 2. 研究の目的

このような背景から、本研究では、**<慢性炎症は、NFkB と STAT3 によって、異常に活性化された線維芽細胞が、“炎症ストローマ”とも言うべき状態となること、引き金である>**との仮説に沿って実験を行なって、**その炎症ストローマの人為的なコントロールを通じて、慢性炎症を人為的にコントロールして、難病からメタボリックシンドロームまで、多くの慢性炎症が原因となった病気を治療する基盤を形成する事を目的とした。**

## 3. 研究の方法

**試験管内での炎症ストローマの存在の証明と性質の解析**

- (1) NFkB と STAT3 の活性化に伴う培養線維芽細胞の増殖能、付遊走能の解析
- (2) NFkB と STAT3 の活性化に伴って誘導される炎症ストローマの性質の解析
- (3) NFkB と STAT3 の活性化に伴う培養線維芽細胞の染色体の不安定さと炎症ストローマでの遺伝子変異導入頻度の上昇

## 4. 研究成果

**自己免疫性慢性炎症モデルでの炎症ストローマの性質の解析として**

- (1) NFkB と STAT3 の活性化に伴う培養線維芽細胞の増殖能、付遊走能の解析

- (2) NFkB と STAT3 の活性化に伴って誘導される炎症ストローマの性質の解析
- (3) NFkB と STAT3 の活性化に伴う培養線維芽細胞の染色体の不安定さと炎症ストローマでの遺伝子変異導入頻度の上昇

**新たな慢性炎症モデルでの炎症ストローマの性質の解析**

- (4) 新たな慢性炎症モデル（動脈硬化、睪島炎、肝炎モデル）系の構築
- (5) 新たな慢性炎症モデルでの炎症ストローマの解析

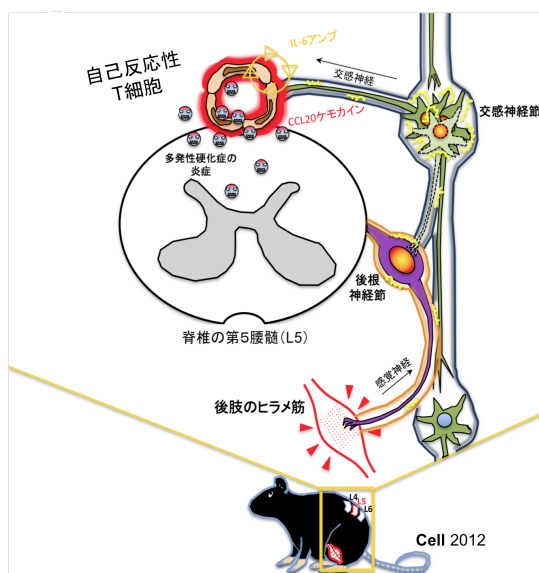
**炎症ストローマの慢性炎症誘導の証明**

**炎症ストローマの機能抑制への標的分子の単離**

- (6) 炎症ストローマ特異的抗体の作製
- (7) shRNA 搭載レンチウイルスライブラリー解析

**炎症ストローマの移入による炎症の惹起**

以上の(1)～(7)の成果から、以下のモデルを証明した。



## 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 25 件)

- (1) Kayama H., Ueda, Y., Sawa, Y., Jeon, S.G., Ma, J.S., Okumura, R., Kubo, A., Ishii, M., Okazaki, T., Murakami, M., Yamamoto, M., Yagita, H., and Takeda, K. Intestinal CX3C chemokine receptor 1high (CX3CR1high) myeloid cells prevent T-cell-dependent colitis. Proc. 査読有 Natl. Acad. Sci. USA. 109: 5010-5015, 2012

- (2) Arima, Y., M. Harada, D. Kamimura, J.-H. Park, F. Kawano, F. E. Yull, T. Kawamoto, Y. Iwakura, U. A.K. Betz, G. Márquez, T. S. Blackwell, Y. Ohira, T. Hirano, and M. Murakami. Regional neural activation directly influences immune signals in the CNS. *Cell* 査読有 148: 447-457, 2012.
- (3) Garcia, N. V., Umemoto, E., Saito, Y., Yamasaki, M., Hata, E., Matozaki, T., Murakami, M., Jung, Y.J., Woo, S.Y., Seoh, JY., Jang, M.H., Aozasa, K., Miyasaka, M. SIRPalpha/CD172a Regulates Eosinophil Homeostasis. 査読有 *J. Immunol.* 187(5): 2268-2277, 2011
- (4) Murakami, M.\*, Y. Okuyama\*, H. Ogura\*, S. Asano, Y. Arima, M. Tsuruoka, M. Harada, M. Kanamoto, Y. Sawa, Y. Iwakura, K. Takatsu, D. Kamimura, T. Hirano. (\*equal contribution) Local microbleeding facilitates IL-6- and IL-17-dependent arthritis in the absence of tissue antigen recognition by activated T cells. *J. Exp. Med.* 査読有 208: 103-114, 2011.
- (5) Murakami, M. and T. Hirano. A four step model for the IL-6 amplifier, a regulator of chronic inflammations in tissue specific MHC class II-associated autoimmune diseases. *Front. Immun.* 査読有 2:22. doi: 10.3389/fimmu.2011.00022
- (6) Fukada, T., Nishida, K., Yamazaki, S., Murakami, M., and Hirano, T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. 査読有 *J Biol Inorg Chem.* 16:1123-1134, 2011
- (7) Nishida, K., Fukada, T., Yamasaki, S., Murakami, M., and Hirano, T. Zinc in Allergy, Autoimmune, and Hard and Connective Tissue Diseases. 査読有 in *Zinc in Human Health* edited by L. Rink., IOS Press, 2011
- (8) Kitabayashi C., T. Fukada, M. Kanamoto, W. Ohashi, S. Hojyo, T. Atsumi, N. Ueda, I. Azuma, H. Hirota, M. Murakami, and T. Hirano. Zinc suppresses Th17 development via inhibition of STAT3 activation. 査読有 *Int. Immunol.* 22(5): 375-386, 2010
- (9) Nakagawa T., Tsuruoka, M., Ogura, H., Okuyama, Y., Arima, Y., Hirano, T., and Murakami, M. IL-6 positively regulates Foxp3+CD8+ T cells in vivo. 査読有 *Int. Immunol.* 22(2): 129-139, 2010
- (10) Atsumi, T., Sato, M., Kamimura, D., Moroi, A., Iwakura, Y., Betz, U.A.K., Yoshimura, A., Nishihara, M., Hirano, T., and Murakami, M. IFN- $\gamma$  expression in CD8+ T cells regulated by IL-6 signal is involved in superantigen-mediated CD4+ T cell death. 査読有 *Int. Immunol.* 21(1): 73-80, 2009
- (11) Sawa, Y., Y. Arima, H. Ogura, C. Kitabayashi, J.-J. Jiang, T. Fukushima, D. Kamimura, T. Hirano, and M. Murakami. Hepatic IL-7 expression regulates T cell Responses, *Immunity*, 査読有 30: 447-457, 2009.

[学会発表] (計 39 件)

- (1) Masaaki Murakami. The IL-6 amplifier activation, a key player of inflammation, in human diseases and disorders. 第40回日本免疫学会学術集会 シンポジウム招待講演 於 幕張メッセ(千葉県)、November 27, 2011.
- (2) Masaaki Murakami. Zinc signaling and Inflammation. The 5<sup>th</sup> International Conference on Metals and Genetics (ICMG2011) シンポジウム招待講演, Kobe International Conference Center, Kobe, Japan, September 5, 2011.
- (3) Masaaki Murakami. IL-6 amplifier and human diseases. RCAI-CGM Joint Meeting、招待講演, 理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター(神奈川県)、June 17, 2011.
- (4) Masaaki Murakami, Chika Kitabayashi, Toshiyuki Fukada, Minoru Kanamoto, Wakana Ohashi, Shintaro Hojyo, Toru Atsumi, Naoko Ueda, Ichiro Azuma, Hiroshi Hirota, and Toshio Hirano. The 60<sup>th</sup> Fujihara Seminar Zinc Signaling and Cellular Functions, “Zinc and CD4+ T cell-mediated autoimmune diseases”, Osaka International Convention Center, October 29-31, 2010.

- (5) Murakami M., and T. Hirano. "Is the recognition of cognate antigens always required for the determination of the tissue specificity of autoimmune diseases associated with MHC II?", Symposium 11 "New Aspect of Effector T cell Functions2, The 39th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, Osaka International Convention Center, Osaka, Japan, December 4, 2009.
- (6) Masaaki Murakami, Hideki Ogura, Yuko Okuyama, Yoichiro Iwakura, Kiyoshi Takatsu, & Toshio Hirano. The recognition of specific antigens is not always required for the development of tissue-specific autoimmune diseases associated with MHC II. 第39回日本免疫学会総会・学術集会、大阪国際会議場、December 2、2009.
- (7) Murakami M., and T. Hirano. "Liver as a regulator of T cells", The 5<sup>th</sup> International Workshop of Kyoto T Cell Conference 2009. Kyoto, Japan, June 1-4, 2009.
- (8) Murakami, M. "How does IL-17 induce Autoimmune Diseases?" The 2nd International Symposium of WPI-IFReC(世界トップレベル研究拠点大阪大学免疫学フロンティア研究センター第二回国際シンポジウム) "Dynamics of Immune Responses", Osaka, Japan, February 12, 2009.

[産業財産権]

○出願状況(計2件)

名称: IL-6 アンプの形成を正か負に制御して慢性炎症性疾患を制御する分子群の発明

発明者: 平野俊夫、村上正晃

権利者: 国立大学法人大阪大学

種類:

番号: 届出受付番号 K20110052(K20110053 を併合)

出願年月日: 2011年

国内外の別: 国内

名称: IL-6 アンプの形成を正か負に制御して慢性炎症性疾患を制御する分子群の発明

発明者: 平野俊夫、村上正晃

権利者: 国立大学法人大阪大学

種類:

番号: PCT/JP2011/071022

出願年月日: 2011.9.14

国内外の別: 国際

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/molonc/www/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

村上 正晃 (MURAKAMI MASA AKI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授

研究者番号: 00250514

### (2) 研究分担者

上村 大輔 (KAMIMURA DAISUKE)

大阪大学・大学院生命機能研究科・助教

研究者番号: 20391922

### (3) 連携研究者 ( )

研究者番号: