

令和元年6月11日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09792

研究課題名(和文) 自然免疫とグルココルチコイドホルモン代謝酵素による新たな生体防御機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of new self-defense mechanism with innate immunity and glucocorticoid metabolizing enzyme

研究代表者

齋 秀二 (SAI, SHUJI)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・客員研究員

研究者番号：50737872

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：自然免疫RIG-Iは、インフルエンザウイルス(Flu)を感知して、インターフェロン(IFN)を産生し生体防御に働く。グルココルチコイドホルモン(GC)は、RIG-Iの過剰活性を抑制する。本研究では、細胞内GC代謝酵素11b-HSD1によるRIG-I抑制機構を明らかにした。11b-HSD1は、Flu感染により誘導され、不活性GCを活性型に変換し、IFNを特異的に抑制する。さらにGCとRIG-Iは協調的に11b-HSD1の発現を上昇させ、自律的にRIG-Iシグナルを抑制する。自然免疫と細胞内GCシグナルには、密接なネットワークが存在し、Flu感染に対して協調的に生体防御に働くことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症インフルエンザウイルス(Flu)感染では、サイトカインストームを合併すると、重篤な状態となる。グルココルチコイドホルモン(GC)は、サイトカイン産生を抑制する有効な治療薬である。本研究では、細胞内GC代謝酵素11b-HSD1が、特異的に過剰なサイトカイン産生を抑制することを見出した。この知見は、効率的なGC治療に有用であり、将来的に新たな治療薬の開発に寄与すると思われる。

研究成果の概要(英文)：Innate immune receptor RIG-I, which senses influenza virus (Flu), produces interferon (IFN) to play a critical role for self-defense. Glucocorticoid hormones (GC) suppress abnormal activation of RIG-I. In this study we found the mechanism that intracellular GC metabolizing enzyme 11b-HSD1 suppressed RIG-I signaling. 11b-HSD1, which induced by Flu infection, converts inert GC to active GC suppressing IFN production. GC and RIG-I synergistically induced 11b-HSD1 and independently suppressed RIG-I signaling. There is a cross network and self-defense mechanism between innate immunity and GC signaling.

研究分野：内分泌学

キーワード：グルココルチコイドホルモン代謝酵素 自然免疫 サイトカインストーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グルココルチコイドホルモン (GC) は、急性感染症などのストレス時に副腎より産生される生体維持に必須のホルモンである。GC は、主にサイトカイン産生を抑制すると考えられているが、感染症におけるその作用機序については不明な点が多い。

自然免疫 Retinoic acid-inducible gene 1 (RIG-I) は、インフルエンザウイルス (Flu) などの RNA ウイルスを感知し、インターフェロン (IFN β) やインターロイキン 6 (IL6) などのサイトカインを産生し、生体防御に働く。一方、細胞内の GC 作用は、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β -HSD) により調節されている。11 β -HSD1 は不活型 GC を活性型 GC に変換し、細胞内の GC 作用を増強する働きを持つ (Sai et al 2008 Mol Endocrinol)。サイトカインは、11 β -HSD1 の発現を上昇させることから (Esteves, Sai et al 2013 PLoS One) 感染症においても 11 β -HSD1 が重要な役割をはたしている可能性が予想された。

2. 研究の目的

本研究では、自然免疫 RIG-I が作動する Flu 感染初期に、細胞内 GC 代謝酵素 11 β -HSD1 が炎症制御に関与していると仮説を立て研究を進めた。本研究の目的は、11 β -HSD1 による自然免疫 RIG-I の炎症制御作用の解明である。

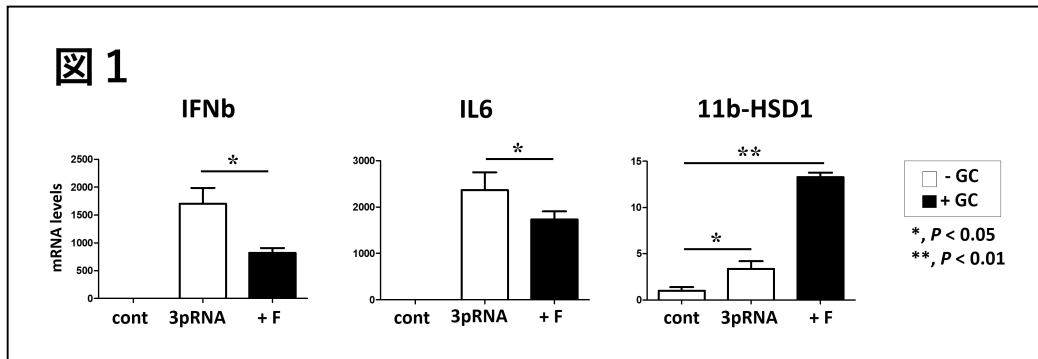
3. 研究の方法

ヒト肺上皮細胞 A549 細胞をモデルとして用いた。Flu 感染モデルとして、RIG-I のリガンドである 3pRNA を使用した。GC として、コルチゾン (E)、コルチゾール (F) 1 μ M を投与した。GC 受容体阻害剤である RU486 を GC 投与 30 分前に投与した。

4. 研究成果

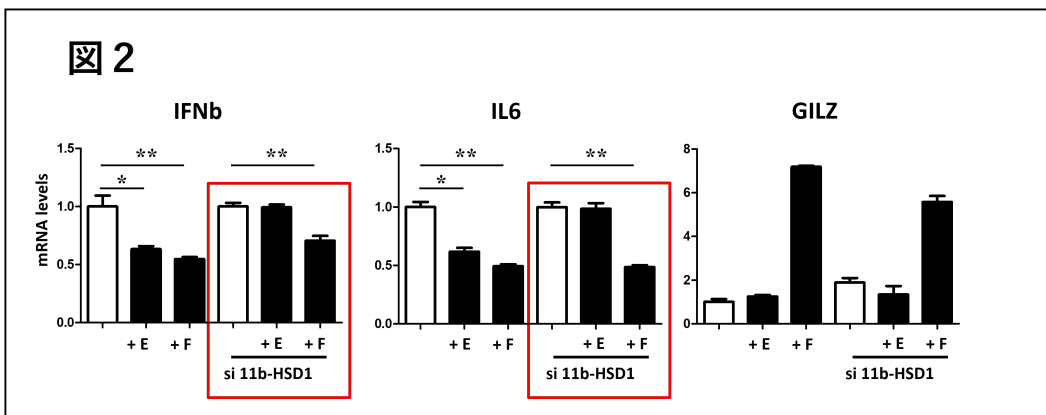
(1) グルココルチコイドホルモン (GC) によるサイトカイン抑制と、11 β -HSD1 の発現誘導

自然免疫 RIG-I のリガンドである 3pRNA を投与すると、サイトカイン (IFN β 、IL6) の遺伝子発現が上昇する (図 1)。3pRNA 投与後に、GC を投与すると、サイトカインの発現上昇は有意に低下した (図 1)。このことは、GC によるサイトカイン産生抑制作用を示している。3pRNA は、11 β -HSD1 の遺伝子発現を有意に上昇させた。さらに GC は 3pRNA と協同的に、11 β -HSD1 の発現を上昇させた。



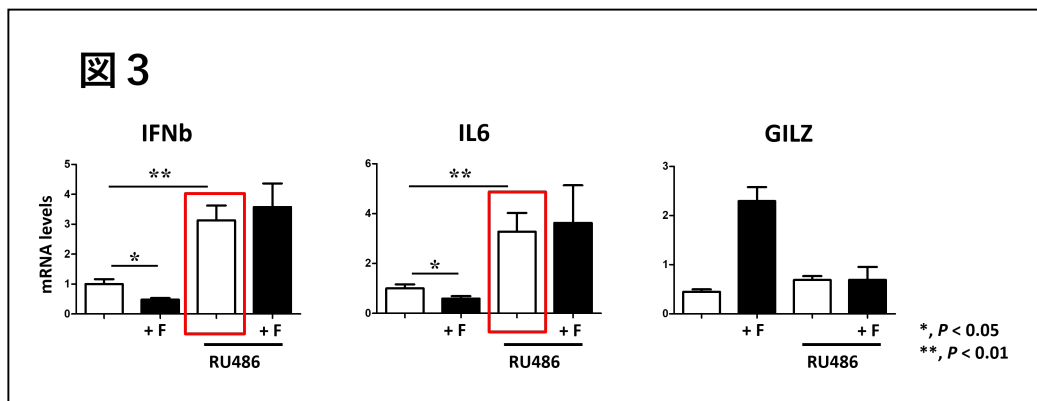
(2) 11 β -HSD1 は不活型 GC コルチゾンのサイトカイン抑制作用を制御している。

3pRNA 刺激にて上昇したサイトカイン (IFN β ・IL6) は、不活型 GC のコルチゾン (E) によって産生が抑制された (図 2)。siRNA を用いて 11 β -HSD1 の機能を消失させると、E によるサイトカイン抑制作用は消失した (図 2)。これらは、不活型 GC の E が 11 β -HSD1 の働きによって活性型のコルチゾール (F) に変換され、サイトカインの産生抑制に働いたことを示す。興味深い事に、GC 誘導遺伝子である GILZ は E によって誘導されない (図 2)。このことは E による作用は、RIG-I シグナル特異的であることを示唆している。



(3) GR による自律的な RIG-I シグナルの抑制

GC による RIG-I シグナル抑制が、GR 依存的吗調べるために、GC 阻害剂である RU486 を用いた実験を行った。3pRNA はサイトカインを上昇させ、GC はその発現を抑制する(図3)。RU486 を前投与すると、GC による抑制は消失した(図3)。興味深い事に、RU486 の前投与だけで、サイトカインの遺伝子発現を劇的に上昇させた(図3)。このことは、3pRNA 刺激下では外因性的 GC に依存しない GR が、自律的にサイトカイン産生を抑制していることを示している(GR 自身による作用か、内因性的新たな GC 産生作用によるもの)。



Flu 感染時には、細胞内 GC 代謝酵素 11b-HSD1 が誘導され、不活型 GC のコルチゾンが活性化される。活性化された GC は、GR に結合し、RIG-I シグナル特異的に作用し、過剰なサイトカイン産生を抑制することが明らかになった。この制御機構は、重症 Flu 感染症時のサイトカインストーム時にも作動していると考えられる。治療薬としての GC は、この内因性制御機構を増強することが推測され、臨床的に有用な知見と思われた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- ・ Sai S, Yamada T, Katsuyama N, Takaoka A. Peripheral glucocorticoid metabolism selectively modulates innate immune receptor RIG-I. *Endocrine Abstracts*. 2018;59:35-35 (査読あり)

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) Shuji Sai, Taisho Yamada, Naoya Katsuyama, Akinori Takaoka. Peripheral glucocorticoid metabolism selectively modulates innate immune receptor RIG-I. Society for Endocrinology BES 2018 (国際学会)
- (2) 勝山直哉, 齋秀二, 山田大翔, 高岡晃教. 自然免疫 RIG I と 11b HSD1 による新たな炎症制御機構の解明. 第 25 回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (2018 年)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等 無し

6. 研究組織

(1)研究分担者 無し

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：山田 大翔

ローマ字氏名：Taisho Yamada

研究協力者氏名：佐藤 精一

ローマ字氏名：Seiichi Sato

研究協力者氏名：高岡 晃教

ローマ字氏名：Akinori Takaoka

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。