

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2012～2016

課題番号：24689056

研究課題名(和文) 関節リウマチの病態形成における炎症性組織再構築メカニズムの統合的理解

研究課題名(英文) Towards an integrated understandings of the inflammatory tissue remodeling in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

研究代表者

朝霧 成拳 (ASAGIRI, Masataka)

名古屋市立大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20372435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,400,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチでは炎症性の骨吸収が過剰となる。本研究においては、種々の臓器における炎症と病態形成メカニズムのリンクを明らかとすることで関節リウマチにおける特異的な骨破壊機序に迫り、NFκB分子の新規活性化メカニズムの解明(Nature Immunol 2012; Cell Reports 2012; Blood 2016)、臓器の炎症性線維化に関わる細胞サブセットの同定(PNAS 2014)、イオン透過性チャネルやアクチン結合タンパク質の骨代謝における役割の解明(Science Signaling 2016; Scientific Reports 2017)などの成果を得て報告した。

研究成果の概要(英文)：Inflammatory bone destruction exceeds bone formation in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). In this study, we gained insights into the mechanism of RA bone destruction by elucidating a link in various organs in inflammation pathology. As a result, we clarified novel activation mechanisms of NFκB molecules (Nature Immunol 2012; Cell Reports 2012; Blood 2016); identified a subset of cells involved in inflammatory fibrosis (PNAS 2014); and elucidated the role of ion permeable channels and actin binding proteins in bone metabolism (Science Signaling 2016; Scientific Reports 2017).

研究分野：病態解析学、免疫学

キーワード：関節リウマチ 自己免疫 病理学 免疫学 炎症 組織破壊 組織再構築 骨代謝

## 1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ (RA) は、世界人口の 0.4-1% が罹患していると推定され、多発性の関節滑膜炎の炎症と不可逆的に進行する関節骨・軟骨の破壊を主な特徴とし、関節外症状として、血管、心臓、肺、腎臓、腱、皮膚、皮下組織などにも影響が及ぶ全身性の自己免疫疾患である。特に問題であるのは、骨・関節破壊が重篤な場合に、関節の機能不全が生じて日常生活に著しい支障をきたすことである。現在の RA 治療アプローチでは、速やかに強力な抗リウマチ薬による介入を行い、炎症を消失させるべく治療を行うのがスタンダードとなっており、学術基盤に基づいた治療剤開発の確からしさが示されている。しかしその一方、長期の薬剤投与にもかかわらず、関節骨が破壊されて機能障害に至るケースも厳然としてあることから、薬剤創出のためのさらなる学術基盤の形成はますます重要になっている。

## 2. 研究の目的

本研究では、関節リウマチ (RA) 病態形成機序の中でも、特にこれまで見過ごされていた炎症細胞リンクに着目して研究をすすめることで、関節骨破壊や全身性の骨粗鬆症の誘導メカニズムを統合的な視点から解明することを目的とした。具体的には、申請者が継続研究してきた細胞の炎症変化について、骨代謝に関連する細胞群の多彩な細胞連関につき最新手法で検討することで、各種の分子メカニズムや種々の細胞の炎症性病態形成における役割を解析し、さらに統合的アプローチにより、各細胞間の大局ならびに局所的相互関係を明らかにすることを目的とした。本研究で得られる知見により、臓器破壊の進行を阻止するための薬剤、例えば抗リウマチ薬の開発や、多剤療法の有効的な検討のための礎の構築が期待される。

## 3. 研究の方法

統合的アプローチによる細胞の炎症性変化

の解明に加え、*in vitro* でのゲノムワイドなデータ取得ができる系の開発や、RNAi スクリーニングに適した実験系の構築を行った。さらに、新規に解明された標的経路に特異的な阻害剤等を骨破壊動物モデルに対して用いることで治療実験を行い、本研究で得られた知見の妥当性を確認した。

## 4. 研究成果

硬組織の健全性維持には、骨の生成と吸収の精緻なバランスが重要であるが、関節リウマチの骨量減少病態においては、骨形成にくらべて破骨細胞性の骨吸収が過剰になり次第に骨構造が侵される。本研究では、種々の臓器における炎症と病態形成メカニズムのリンクを明らかとすることで関節リウマチにおける特異的な骨破壊機序に迫り、NFkB 分子の新規活性化メカニズムの解明 (Nature Immunol 2012; Cell Reports 2012; Blood 2016)、臓器の炎症性線維化に関わる細胞サブセットの同定 (PNAS 2014)、イオン透過性チャネルの骨代謝における役割の解明 (Science Signaling 2016) などの成果を得て報告した。さらに本研究では、アクチン結合分子群の役割に重点をおいた解析を行い、Coronin 1A が分泌型リソソームの細胞内局在や、骨溶解酵素の細胞外への分泌、また破骨細胞の骨吸収能に影響を与えること、また Coronin 1A がアクチンとの結合を介して、膜関連タンパク質でありまたオートファジー関連因子でもある LC3 の脂質化を阻害し、このことが、分泌型リソソームの破骨細胞内での輸送あるいは波状縁との細胞膜融合を阻害する要因となっており、骨溶解酵素の細胞外への分泌を制御している可能性が高いことなどを示した (Scientific Reports 2017)。

## 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 17 件)

Ohmae S, Noma N, Toyomoto M, Shinohara M, Takeiri M, Fuji H, Takemoto K, Iwaisako K, Fujita T, Takeda N, Kawatani M, Aoyama M, Hagiwara M, Ishihama Y, Asagiri M.

Actin-binding protein coronin 1A controls osteoclastic bone resorption by regulating lysosomal secretion of cathepsin K.

*Scientific Reports*, **7**:41710 (2017)

Nishio T, Taura K, Iwaisako K, Koyama Y, Tanabe K, Yamamoto G, Okuda Y, Ikeno Y, Yoshino K, Kasai Y, Okuno M, Seo S, Sakurai T, Asagiri M, Hatano E, Uemoto S.

Hepatic vagus nerve regulates Kupffer cell activation via  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor in nonalcoholic steatohepatitis.

*J Gastroenterol.*, in press, doi: 10.1007/s00535-016-1304-z (2017)

Semba H, Takeda N, Isagawa T, Sugiura Y, Honda K, Wake M, Miyazawa H, Yamaguchi Y, Miura M, Jenkins DM, Choi H, Kim JW, Asagiri M, Cowburn AS, Abe H, Soma K, Koyama K, Katoh M, Sayama K, Goda N, Johnson RS, Manabe I, Nagai R, Komuro I. HIF-1 -PDK1 axis-induced active glycolysis plays an essential role in macrophage migratory capacity.

*Nature Commun.*, **7**, 11635 (2016)

Zhao C, Ichimura A, Qian N, Iida T, Yamazaki D, Noma N, Asagiri M, Yamamoto K, Komazaki S, Sato C, Aoyama F, Sawaguchi A, Kakizawa S, Nishi M, Takeshima H.

Mice lacking the intracellular cation

channel TRIC-B have compromised collagen production and impaired bone mineralization.

*Science Signal.*, **9**, ra49 (2016)

Almaden JV, Liu YC, Yang E, Otero DC, Birnbaum H, Davis-Turak J, Asagiri M, David M, Goldrath AW, Hoffmann A.

B-cell survival and development controlled by the coordination of NF- $\kappa$ B family members RelB and cRel.

*Blood*, **127**, 1276-86 (2016)

Fujita T, Soontrapa K, Ito Y, Iwaisako K, Moniaga CS, Asagiri M, Majima M, Narumiya S.

Hepatic stellate cells relay inflammation signaling from sinusoids to parenchyma in mouse models of immune-mediated hepatitis.

*Hepatology*, **63**, 1325-39 (2016)

Ochiya T, Takenaga K, Asagiri M, Nakano K, Satoh H, Watanabe T, Imajoh-Ohmi S, Endo H.

Efficient inhibition of tumor angiogenesis and growth by a synthetic peptide blocking S100A4-methionine aminopeptidase 2 interaction.

*Mol Ther Methods Clin Dev.*, **2**, 15008 (2015)

Noma N, Asagiri M, Takeiri M, Ohmae S, Takemoto K, Iwaisako K, Minato N, Maeda-Yamamoto M, Simizu S, Umezawa K. Inhibition of MMP-2-Mediated Mast Cell Invasion by NF- $\kappa$ B Inhibitor DHMEQ in Mast Cells.

*Int Arch Allergy Immunol.*, **166**, 84-90 (2015)

Tanabe K, Taura K, Koyama Y, Yamamoto G, Nishio T, Okuda Y, Nakamura K, Toriguchi K, Takemoto K, Yamanaka K,

Iwaisako K, Seo S, Asagiri M, Hatano E, Uemoto S.

Migration of splenic lymphocytes promotes liver fibrosis through modification of T helper cytokine balance in mice.

*J Gastroenterol.*, **50**, 1054-68 (2015)

Iwaisako K, Taura K, Koyama Y, Takemoto K, Asagiri M.

Strategies to Detect Hepatic Myofibroblasts in Liver Cirrhosis of Different Etiologies.

*Curr Pathobiol Rep.*, **2**, 209-215 (2014)

Takemoto K, Hatano E, Iwaisako K, Takeiri M, Noma N, Ohmae S, Toriguchi K, Tanabe K, Tanaka H, Seo S, Taura K, Machida K, Takeda N, Saji S, Uemoto S, Asagiri M.

Necrostatin-1 protects against reactive oxygen species (ROS)-induced hepatotoxicity in acetaminophen-induced acute liver failure.

*FEBS Open Bio.*, **4**, 777-87 (2014)

Iwaisako K, Jiang C, Zhang M, Cong M, Moore-Morris TJ, Park TJ, Liu X, Xu J, Wang P, Paik YH, Meng F, Asagiri M, Murray LA, Hofmann AF, Iida T, Glass CK, Brenner DA, Kisseleva T.

Origin of myofibroblasts in the fibrotic liver in mice.

*Proc Natl Acad Sci USA.*, **111**:E3297-305 (2014)

Saito S, Hata K, Iwaisako K, Yanagida A, Takeiri M, Tanaka H, Kageyama S, Hirao H, Ikeda K, Asagiri M, Uemoto S.

Cilostazol attenuates hepatic stellate cell activation and protects mice against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis.

*Hepato Res.*, **44**, 460-73 (2014)

Soeno Y, Fujita K, Kudo T, Asagiri M, Kakuta S, Taya Y, Shimazu Y, Sato K, Tanaka-Fujita R, Kubo S, Iwakura Y, Nakamura Y, Mori S, Aoba T.

Generation of a mouse model with down-regulated U50 snoRNA (SNORD50) expression and its organ-specific phenotypic modulation.

*PLoS One*, **8**, e72105 (2013)

Shih VF, Davis-Turak J, Macal M, Huang JQ, Ponomarenko J, Kearns JD, Yu T, Fagerlund R, Asagiri M, Zuniga EI, Hoffmann A.

Control of RelB during dendritic cell activation integrates canonical and noncanonical NF- $\kappa$ B pathways.

*Nature Immunol.*, **13**, 1162-70 (2012)

Wang VY, Huang W, Asagiri M, Spann N, Hoffmann A, Glass C, Ghosh G.

The transcriptional specificity of NF- $\kappa$ B dimers is coded within the  $\kappa$ B DNA response elements.

*Cell Rep.*, **2**, 824-39 (2012)

Kanemaru K, Nakamura Y, Sato K, Kojima R, Takahashi S, Yamaguchi M, Ichinohe M, Kiyonari H, Shioi G, Kabashima K, Nakahigashi K, Asagiri M, Jamora C, Yamaguchi H, Fukami K.

Epidermal phospholipase C 1 regulates granulocyte counts and systemic interleukin-17 levels in mice.

*Nature Commun.*, **3**, 963 (2012)

[学会発表](計5件)

The Society of Toxicology 54th Annual Meeting and ToxExpo, March 22-26, 2015, at the San Diego Convention Center in San Diego, California

Involvement of regulated necrosis in the pathogenesis of drug-induced acute liver

failure

Kenji Takemoto, Etsuro Hatano, Keiko Iwaisako, Kan Toriguchi, Kazutaka Tanabe, Kojiro Taura, Shinji Uemoto, Masataka Asagiri

第 39 回日本分子生物学会年会  
破骨細胞の骨吸収における新規制御分子の  
同定

大前 沙織、竹入 雅敏、野間 成人、藤 浩  
明、祝迫 恵子、朝霧 成拳

2016 年 11 月 30 日 ~ 2016 年 12 月 2 日  
パシフィコ横浜

第 45 回日本免疫学会学術集会

Coronin1A regulates the secretory  
component of osteoclastic bone  
resorption

大前 沙織、野間 成人、藤 浩明、竹入 雅  
敏、祝迫 恵子、朝霧 成拳

2016 年 12 月 5 日 ~ 12 月 7 日  
沖縄コンベンションセンター

第 35 回日本炎症・再生医学会

薬剤性劇症肝炎の病態形成における制御性  
壊死の関与

竹本研史 1, 波多野悦朗, 祝迫恵子, 竹入  
雅敏, 野間成人, 烏口寛, 田邊和孝, 瀬尾  
智, 田浦康二郎, 朝霧成拳, 上本伸二

開催年月日: 2014.07.1-4

開催地: 名護市

会場: 万国津梁館

第 114 回 日本外科学会定期学術集会

祝迫 恵子、朝霧 成拳、木下 正彦、濱野 玄  
弥、野沢 彰紀、西岡 孝芳、浦田 順久、坂  
田 親治、竹村 茂一、久保 正二

演題名: 肝臓の筋線維芽細胞の起源  
肝疾患の治療標的探索

〔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

<http://www.ak.med.kyoto-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朝霧 成拳 (ASAGIRI, Masataka)

名古屋市立大学大学院薬学研究科・准教授

研究者番号: 20372435

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者