

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19031

研究課題名(和文) IL-33受容体ST2の新規リガンドの同定と生理的意義の解明

研究課題名(英文) The role of ST2, a receptor for cytokine IL-33, in the pathogenesis of cancer/autoimmune disease

研究代表者

蒲池 史卓 (KAMACHI, Fumitaka)

東京理科大学・理工学部応用生物科学科・助教

研究者番号：00747800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：多発性硬化症は、脳・脊髄などの中枢神経が侵される難病であり、自己免疫的機序により病態が形成されると考えられている。また、肥満は肝臓癌のリスクファクターと考えられており、現在、肥満人口は全世界的に増加していることから、肥満を背景とした肝臓患者数は今後増加すると予想される。本研究では、これら自己免疫疾患や癌疾患の新たな治療標的を探すため、サイトカイン受容体ST2の役割を検討した。その結果、ST2の機能を阻害することで、多発性硬化症モデルマウスや肥満関連肝臓癌モデルマウスの症状が緩和することがわかった。

研究成果の概要(英文)：The pathogenesis of multiple sclerosis, an autoimmune disease affecting the brain and spinal cord, remains poorly understood. Although obesity is known to be a risk factor for several types of cancer including hepatocellular carcinoma, the exact mechanisms have remained largely unclear. In this study, we tried to investigate whether ST2, a receptor for cytokine interleukin-33, could be a therapeutic target for multiple sclerosis and obesity-associated hepatocellular carcinoma. We found that the inhibition of ST2 signaling attenuated the symptoms of multiple sclerosis model mice and the development of obesity-associated hepatocellular carcinoma in mice.

研究分野：免疫学

キーワード：ST2

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症は、脳・脊髄などの中枢神経が侵される難病であり、自己免疫的機序により病態が形成されると考えられている。20～30代で発症することが多く、歩行や運動が困難になるため、仕事や子育てに支障が出てしまう。それ故、本疾患の治療法の確立は、患者だけでなく社会全体にも有益であると考えられる。また、肥満は様々な生活習慣病の発症リスクを高めるだけでなく、肝臓がんを含む各種がん疾患のリスクファクターであると考えられている。現在、肥満人口は全世界的に増加していることから、肥満を背景とした肝臓患者数は今後増加すると予想される。しかし、その詳細な分子メカニズムは明らかにされていない。

これら自己免疫疾患や癌疾患の発症・病態形成には、サイトカインと呼ばれるタンパク質が重要な役割を果たす。サイトカインは、対応する受容体(細胞表面に発現するタンパク質)に結合することで、様々な機能を発揮する。申請者は、サイトカイン受容体 ST2 を阻害する抗体(抗 ST2 ブロッキング抗体)を投与することで、多発性硬化症モデルマウスの症状が抑えられることを明らかにしていた。また、肥満誘導性肝臓癌モデルマウスの肝臓組織のマイクロアレイ解析の結果から、非腫瘍部に比べて腫瘍部では ST2 のリガンド IL-33 が高発現していることを見出した。ST2 は、サイトカイン IL-33 と結合し、主にアレルギー疾患の発症に関与することが報告されていたが、自己免疫疾患や癌疾患における役割は、十分には解明されていなかった。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、自己免疫疾患や癌疾患における IL-33 - ST2 経路の役割を解明し、自己免疫疾患や癌疾患の治療標的になりうるかどうか明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

多発性硬化症モデルマウスや当研究室で確立した肥満誘導性肝臓癌モデルマウスを用いて、IL-33 や ST2 を阻害(遺伝子の欠損、抗 ST2 ブロッキング抗体の投与など)することにより病態形成が抑えられるかどうか検証した。また、フローサイトメトリー解析等により、ST2 を発現する細胞を探索した。さらに、病態形成時における IL-33 の産生機構や、ST2 発現細胞の役割を調べた。

4. 研究成果

多発性硬化症の発症に、IL-33 - ST2 が関与するかどうか明らかにするため、IL-33 を欠損させたマウスを使用した。その結果、IL-33 欠損マウスと野生型マウスとの間では、多発性硬化症モデルマウスの症状に差が認められなかった。一方、抗 ST2 ブロッキング抗体を投与した場合、野生型マウスと IL-33 欠損マウスともに、多発性硬化症モデルマウスの

症状が抑制された。これらの結果から、ST2 には IL-33 以外のリガンドが存在し、抗 ST2 ブロッキング抗体は未知のリガンドと ST2 との結合を阻害することで多発性硬化症モデルマウスの病態形成を抑制したと考えられる。次に、正常マウスと多発性硬化症モデルマウスのリンパ節や脊髄中において ST2 を発現する細胞を調べたところ、CD4 陽性 T 細胞の一部が ST2 を発現することが分かった。多発性硬化症モデルの病態形成には、ナイーブ T 細胞の活性化、活性化 T 細胞の中枢神経系への移行、中枢神経系における神経損傷という段階があると考えられる。そこで、各ステップに期間を限定して抗 ST2 ブロッキング抗体を投与したところ、活性化 T 細胞の中枢神経系への移行の段階で ST2 が働くことを示唆する結果を得た。また、IL-33 以外の ST2 のリガンドが存在するのか明らかにするため、IL-33 欠損マウス由来の各種臓器のライセートでマスト細胞を刺激したところ、ST2 依存性の反応が誘導されることがわかった。以上の結果から、ST2 は IL-33 以外の新規リガンドと結合することで、多発性硬化症等の自己免疫疾患の病態形成を促進する可能性がある。

次に、肥満を背景とした肝臓癌形成に IL-33 - ST2 が関与するかどうか検討した。その結果、IL-33 欠損マウスおよび ST2 欠損マウスでは野生型マウスに比べて肝腫瘍数が低下することがわかった。この結果から、肝臓癌形成において、ST2 は IL-33 をリガンドとすることで癌促進的に働くと考えられる。マイクロアレイ解析の結果から、肝腫瘍部で IL-33 発現が高まっていることを明らかにしていたことから、肝臓微小環境で IL-33 を発現する細胞を探索した。その結果、肝星細胞において細胞老化に伴い IL-33 の発現が誘導されることがわかった。IL-33 は、ある種のプロテアーゼによる切断され活性が高まることが報告されている。肥満誘導性肝臓癌モデルマウスの肝腫瘍局所には切断型の IL-33 が多く存在し、細胞老化を誘導した肝星細胞の培養上清には切断型 IL-33 が存在することがわかった。したがって、老化した肝星細胞は、効率的に活性の高い IL-33 を分泌する能力を有する可能性がある。次に、肥満誘導性肝臓癌形成における IL-33 の役割を検討したところ、リコンビナント IL-33 投与により腫瘍数が増加し、一方、抗 ST2 ブロッキング抗体投与により肝腫瘍数が低下することがわかった。これまでに、細胞老化を起こした肝星細胞が肝臓癌促進的な微小環境を形成することを明らかにしていたが、その分子機構は解明されていなかった。本研究結果から、肥満状態に陥ると、細胞老化を起こした肝星細胞が IL-33 を産生し、IL-33 - ST2 経路が活性化することで、肥満誘導性肝臓癌形成が促進すると考えられる。以上の結果から、ST2 は自己免疫疾患と癌疾患の治療標的になる可能性が示された。

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5件)

Takahashi A, Loo TM, Okada R, Kamachi F, Watanabe Y, Wakita M, Watanabe S, Kawamoto S, Miyata K, Barber GN, Ohtani N, Hara E. Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nature Communications* 9, 2018 DOI:10.1038/s41467-018-03555-8(査読有)

Sakaguchi K, Koyanagi A, Kamachi F, Harauma A, Chiba A, Hisata K, Moriguchi T, Shimizu T, Miyake S. Breastfeeding regulates development of immune system through TGF- β in mice pups. *Pediatrics International* 60, 224-231, 2017 DOI: 10.1111/ped.13507(査読有)

Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, Watashi K, Taketo MM, Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E, Ohtani N. Gut Microbiota Promotes Obesity-Associated Liver Cancer through PGE₂-Mediated Suppression of Antitumor Immunity. *Cancer Discovery* 7, 522-538, 2017 DOI:10.1158/2159-8290.CD-16-0932(査読有)

Katsura Y, Harada N, Harada S, Ishimori A, Makino F, Ito J, Kamachi F, Okumura K, Akiba H, Atsuta R, Takahashi K. Characteristics of alveolar macrophages from murine models of OVA-induced allergic airway inflammation and LPS-induced acute airway inflammation. *Experimental Lung Research* 41, 370-382, 2015 DOI: 10.3109/01902148.2015.1044137(査読有)

Kamachi F, Isshiki T, Harada N, Akiba H, Miyake S. ICOS promotes group 2 innate lymphoid cell activation in lungs. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 463, 739-745, 2015 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.06.005(査読有)

[学会発表](計18件)

Fumitaka Kamachi, Tatsuya Arai, Makoto, Arita, Naoko Ohtani Effects of gut microbial metabolites of linoleic acid on cytokine production by immune cells 第46回日本免疫学会学術集会 2017年

新井 達也、蒲池 史卓、有田 誠、岸野 重信、小川 順、大谷 直子 腸内細菌によるリノール酸代謝産物の免疫系への作用 ConBio2017 2017年

山崎 翔太、蒲池 史卓、中村 大、中島 将博、Loo Mun、吉本 真、新井 達也、田口 速男、中江 進、原 英二、大谷 直子 SASP 因子の相乗効果による肥満誘導性肝がん形成促進機構の解明 ConBio2017 2017年

窪田 達寛、安藤 達也、福井 優也、渡辺 喜洋、小澤 崇之、蒲池 史卓、八尾 良司、佐藤 俊朗、大谷 直子 肝臓オルガノイドを用いた肥満誘導性肝臓がん発症モデルの構築及び、がんの起源細胞の解明 ConBio2017 2017年

羅 智文、蒲池 史卓、渡辺 喜洋、神田 浩明、大島 正伸、岩間 厚志、有田 誠、原 英二、大谷 直子 腸内細菌叢が肥満誘導性肝癌の進展を促進する：デオキシコール酸(DCA)とリポタイコ酸(LTA)の協調作用 ConBio2017 2017年

Fumitaka Kamachi A novel SASP factor IL-33 promotes obesity-associated liver cancer development International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2017(招待講演)(国際学会) 2017年

Ohtani N, Loo TM, Kamachi F Obesity-associated gut microbiota and cancer development 第76回日本癌学会(招待講演) 2017年

Kamachi F, Nakamura M, Yamazaki S, Nakae S, Hara E, Ohtani N IL-33 from senescent hepatic stellate cells promotes obesity-associated liver cancer development by suppressing antitumor immunity 19th International Symposium on Cells of the Hepatic Sinusoid(国際学会) 2017年

Tze Mun Loo, Fumitaka Kamachi, Yoshihiro Watanabe, Yuriko Arai, Hiroaki Kanda, Eiji Hara and Naoko Ohtani Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2-mediated suppression of antitumor immunity Keystone symposia Aging and Mechanisms of Aging-Related Disease(国際学会) 2017年

蒲池 史卓、中村 大、山崎 翔太、中島 将博、羅 智文、吉本 真、新井 達也、原田 陽介、久保 允人、田口 速男、中江 進、原 英二、大谷 直子 腸内細菌代謝産物が形成する肝癌微小環境における interleukin-33 の役割解明 第1回消化器臓器間ネットワーク研究会 2017年

Fumitaka Kamachi, Masaru Nakamura, Shota Yamazaki, Tze Mun Loo, Shin Yoshimoto, Tatsuya Arai, Yohsuke Harada, Masato Kubo, Susumu Nakae, Eiji Hara, Naoko Ohtani IL-33/ST2 pathway promotes obesity-associated liver cancer development The 19h Takeda Science Foundation Symposium on Biosciences (国際学会) 2017年
Shota Yamazaki, Fumitaka Kamachi, Masaru Nakamura, Masahiro Nakajima, Tze Mun Loo, Shin Yoshimoto, Tatsuya Arai, Hayao Taguchi, Susumu Nakae, Eiji Hara, Naoko Ohtani Synergism of SASP factors: activation mechanism of interleukin-33 in senescent hepatic stellate cells in promoting obesity-associated liver cancer The 19h Takeda Science Foundation Symposium on Biosciences (国際学会) 2017年

Yoshihiro Watanabe, Tze Mun Loo, Fumitaka Kamachi, Shin Yoshimoto, Yuriko Arai, Masaru Nakamura, Miho Kumagai, Masanobu Oshima, Eiji Hara, Naoko Ohtani The gut microbiota-mediated TLR2-COX2 axis promotes obesity-associated liver cancer through evasion of anti-tumor immunity by PGE₂ The 19h Takeda Science Foundation Symposium on Biosciences (国際学会) 2017年
Fumitaka Kamachi, Shota Yamazaki, Tatsuya Arai, Yohsuke Harada, Masato Kubo, Susumu Nakae, and Naoko Ohtani IL-33 promotes obesity-associated liver cancer development 第45回日本免疫学会学術集会 2016年

中村 大、蒲池 史卓、山崎 翔太、新井 達也、原田 陽介、久保 允人、羅 智文、吉本 真、中江 進、原 英二、大谷 直子 肥満誘導性肝臓癌における interleukin-33 の役割解明 第39回日本分子生物学会年会 2016年
熊谷 実保、蒲池 史卓、安藤 達也、新井 友里子、井手口 真理、中村 大、小澤 崇之、渡辺 喜洋、山崎 翔太、羅 智文、大谷 直子 規則的な運動は肥満誘導性肝腫瘍の発症を抑制する 第39回日本分子生物学会年会 2016年
羅 智文、蒲池 史卓、渡辺 喜洋、大谷 直子 肥満誘導性の腸内細菌代謝物による肝星細胞の細胞老化・SASPと肝がんの促進 第39回日本分子生物学会年会 2016年

Fumitaka Kamachi, Takuma Isshiki, Norihiro Harada, Hisaya Akiba, Sachiko Miyake ICOS promotes group 2 innate lymphoid cell activation in lungs 第44回日本免疫学会学術集会

2015年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: Use of EP4 receptor antagonists for the treatment of NASH-associated liver cancer

発明者: Naoko OHTANI, Fumitaka KAMACHI, Tze Mun LOO, Shinichi KOIZUMI, Takako OKUMURA

権利者: 同上

種類: 特許

番号: New U.S. Patent Application No. 15/343,999

出願年月日: 2016年11月4日

国内外の別: 国外

取得状況(計0件)

〔その他〕

日本免疫学会主催のアウトリーチ活動(免疫ふしぎ未来2015)の運営に実行委員として参加した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

蒲池 史卓 (KAMACHI, Fumitaka)

東京理科大学・理工学部応用生物科学科・助教

研究者番号: 00747800