

平成 30 年 5 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15146

研究課題名(和文)インフラマソーム活性化薬物による薬剤誘発性免疫疾患の病因解明

研究課題名(英文)Elucidation of pathogenesis of drug-induced immune diseases caused by activation of inflammasome

研究代表者

松沢 厚 (Matsuzawa, Atsushi)

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：80345256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：抗癌剤ゲフィチニブで誘発される間質性肺炎など薬剤誘発性疾患は、致死性の重篤な副作用であり、衛生薬学分野として解決すべき重要な問題である。しかし、それら疾患の実際の原因は良く分かっていない。インフラマソームは細胞内の病原体や異物を感知する受容体で、炎症応答や細胞死を惹起し、近年、様々な免疫疾患の原因となることが分かってきた。本研究では、幾つかの薬剤がNLRPファミリー分子で構成されるインフラマソーム活性化を誘導することを見出し、薬剤誘発性疾患の原因の一部が、薬剤によるインフラマソーム活性化を介した免疫応答の異常亢進である可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Drug-induced immune diseases, such as interstitial pneumonia caused by the anticancer drug Gefitinib, are considered to be fatal and severe side effects and important problems, which must be solved in the field of pharmaceutical health science. However, the actual cause of the diseases is not yet well understood. Inflammasomes, intracellular receptors recognizing pathogens and foreign materials, induce inflammation and cell death and have recently been shown to be the cause of various immune diseases. In this study, we revealed that several drugs activate inflammasomes composed of NLRP family molecules, and that drug-induced immune diseases may be partially caused by abnormal promotion of immune response through the activation of inflammasomes.

研究分野：分子生物学

キーワード：薬剤誘発性免疫疾患 インフラマソーム 炎症性サイトカイン NLRPファミリー分子 薬剤副作用

1. 研究開始当初の背景

ゲフィチニブは、上皮成長因子受容体をターゲットとした分子治療標的薬として世界に先駆けて開発された抗癌剤だが、急性肺障害や間質性肺炎などの重篤な副作用を頻発し、社会的にも大きな問題となった薬剤である。ゲフィチニブに限らず、バンコマイシンやセフォタキシムといった、我々に通常汎用される抗菌剤や解熱鎮痛薬でも、間質性肺炎や急性腎障害、急性肝不全といった重篤な薬剤誘発性の疾患を併発する(*Target Oncol.*, 6, p235, 2011; *Pharmacotherapy*, 4, p1259, 2014)。これらの疾患の発生は決して高頻度ではないものの、一度発症すると致死となる可能性が高いため、その原因解明や予防・治療法の開発が、衛生薬学の観点からも強く求められている。しかし、副作用発生の実際のメカニズムについては良く分かっていない。インフラマソームは、様々な炎症・免疫疾患の原因となることが報告され、近年注目されている。インフラマソームは、NLRP ファミリー分子を中心としたタンパク質複合体であり、細胞内の病原体や異物を感知する受容体として機能し、炎症応答や炎症を賦活化させるための特殊な細胞死(ピロトーシス)を惹起する(*Nature*, 481, p278, 2014)。例えば、NLRP3は最も研究が進んでいるNLRP ファミリー分子の一つであり、ここ数年で、NLRP3 が間質性肺炎や急性腎障害の発症と深く関わる可能性が幾つか報告されつつある(*Sci. Rep.*, 5, 10901, 2015)。実際、薬剤誘発性疾患の多くは、病態が炎症性で免疫応答異常が原因と考えられる。しかし、薬剤性の間質性肺炎や急性腎障害へのNLRP ファミリー分子の関与についての報告は全く無い。

2. 研究の目的

以上の背景を基に、我々は、特定の薬剤もインフラマソームを介して薬剤誘発性免疫疾患を惹起しているのではないかと考えた。本研究を計画していた時点で、薬剤誘発性免疫疾患とインフラマソームとの関連について報告は全く無かった。そこで本研究では、薬剤性の間質性肺炎や急性腎障害といった各々の疾患を発症する、ゲフィチニブやバンコマイシン等の薬剤が、NLRP ファミリー分子で構成されるインフラマソーム活性化を誘導することを検証し、これまで不明であった薬剤誘発性疾患の原因の一部が、薬剤によるインフラマソーム活性化を介した免疫応答の異常亢進である可能性を明らかにすることを目的とする。さらに、その分子レベルでのメカニズムの解明により、新たな薬剤誘発性疾患の発症機序を提言し、それら疾患の新規予防・治療戦略の開発に繋げたい。

3. 研究の方法

まず、間質性肺炎や急性腎障害などの薬剤誘発性疾患が多く報告され、汎用される幾つかの抗癌剤や抗菌剤、解熱鎮痛剤(ゲフィチニブやバンコマイシン、セフォタキシム等)を用いて、免疫担当細胞への処理により、インフラマソームの活性化が誘導されるか否か検討する。インフラマソームは、インフラマソームの中心的構成因子であるNLRP ファミリー分子とASCアダプター分子、Caspase-1等から構成され、その活性化によって、Caspase-1によるIL-1 前駆体の切断を介した活性型IL-1 を産生することから、インフラマソームの活性化はIL-1 産生を指標とした。また、インフラマソームの構成因子をターゲットとした幾つかの欠損細胞や再構成細胞等を作成して、実際にインフラマソームの構成因子が薬剤誘発性の炎症誘導に関与しているか否か検討し、薬剤誘発性免疫疾患の予防・治療標的としてのインフラマソームの妥当性も検証する。

4. 研究成果

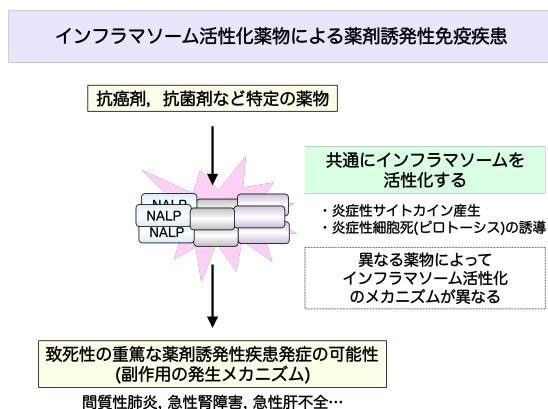
解析の結果、幾つかの薬剤は免疫担当細胞における炎症や細胞障害を誘導することが明らかとなった。特に抗菌薬として汎用される、グリコペプチド系抗生物質バンコマイシンとβ-ラクタム系抗生物質セフォタキシム等が、IL-1 といった炎症性サイトカインの産生を促進させることが判明した。そこで、個々の薬剤による炎症誘導のメカニズムについて検討した。

バンコマイシンやセフォタキシムなど、ある種のグリコペプチド系抗生物質とβ-ラクタム系抗生物質は、インフラマソームの活性化を介してIL-1 産生を促進し、炎症を誘導することが分かった。系統的に樹立したNLRP ファミリー分子等の欠損細胞および再構築細胞の解析によって、これらの抗生物質は、インフラマソーム構成分子のNLRP ファミリー分子の中でも、共通に特定のファミリー分子を必要とすることが明らかとなった。一方で、グリコペプチド系抗生物質に関しては、共通のNLRP ファミリー分子とは別のNLRP ファミリー分子を介して炎症応答が誘導される経路も存在する可能性が示唆された。

また、ある種のβ-ラクタム系抗生物質による炎症誘導メカニズムは、ミトコンドリア由来の活性酸素産生を介すること、その活性酸素は特別な多機能分子を核とした細胞内凝集体の形成を促進し、この細胞内凝集体の形成によってアポトーシス等とは別の特殊な細胞死を誘導することも判明した。この特殊な細胞死を介して炎症が亢進される可能性が考えられる。

さらに、ゲフィチニブについても細胞死を誘導するような細胞障害作用を有している

可能性を見出しており、この作用がインフラマソーム活性化を介した特殊な細胞死に依存しているかなど、メカニズムについての検討を進めているところである。



このように、幾つかの薬剤はインフラマソーム活性化による炎症誘導作用や細胞障害を介した細胞死誘導作用を有していることが明らかとなった。従って、これらの薬剤の副作用としての薬剤誘発性免疫疾患の原因の一部は、インフラマソーム活性化を介した免疫応答の異常亢進である可能性が考えられる。また、炎症誘導の分子メカニズムについては、一部共通な部分と個々の薬剤に特徴的な機序が存在することが分かってきた。インフラマソーム活性化という点では共通しているものの、関わる NLRP ファミリー分子が異なる場合や、あるいは、単純なインフラマソーム活性化だけでなく、NLRP ファミリー分子の発現誘導のプロファイルが各々の薬剤で違うためにインフラマソーム活性化メカニズムが異なる場合もあることが示唆されている。今後は、本研究の成果を基に、薬剤誘発性免疫疾患の発症機序の詳細な解明と、それらの新たな予防・治療戦略の提案・開発に繋がっていきたいと考えている。

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7件)

1. Hirata, Y., Katagiri, K., Nagaoka, K., Morishita, T., Kudoh, Y., Hatta, T., Naguro, I., Kano, K., Udagawa, T., Natsume, T., Aoki, J., Inada, T., Noguchi, T., Ichijo, H., Matsuzawa, A. TRIM48 promotes ASK1 activation and cell death through ubiquitination-dependent degradation of the ASK1 negative regulator PRMT1.

Cell Rep., 21, 2447-2457 (2017).

(査読有) doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.007

2. Hirata, Y., Takahashi, M., Kudoh, Y., Kano, K., Kawana, H., Makide, K., Shinoda, Y., Yabuki, Y.,

Fukunaga, K., Aoki, J., Noguchi, T., Matsuzawa, A. Trans-fatty acids promote proinflammatory signaling and cell death by stimulating the apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway.

J. Biol. Chem., 292, 8174-8185 (2017).

(査読有) doi: 10.1074/jbc.M116.771519

3. Abe, T., Takahashi, M., Kano, M., Amaike, Y., Ishii, C., Maeda, K., Kudoh, Y., Morishita, T., Hosaka, T., Sasaki, T., Kodama, S., Matsuzawa, A., Kojima, H., Yoshinari, K. Activation of nuclear receptor CAR by an environmental pollutant perfluorooctanoic acid.

Arch. Toxicol., 91, 2365-2374 (2017).

(査読有) doi: 10.1007/s00204-016-1888-3

4. Matsuzawa, A. Physiological roles of ASK family members in innate immunity and their involvement in pathogenesis of immune diseases.

Adv. Biol. Regul., 66, 46-53 (2017).

(査読有) doi: 10.1016/j.jbior.2017.10.007

5. Hirata, Y., Takahashi, M., Morishita, T., Noguchi, T., Matsuzawa, A. Post-Translational Modifications of the TAK1-TAB Complex.

Int. J. Mol. Sci., 18, E205 (2017).

(査読有) doi: 10.3390/ijms18010205

6. Matsuzawa, A. Thioredoxin and redox signaling: Roles of the thioredoxin system in control of cell fate.

Arch. Biochem. Biophys., 617, 101-105 (2017).

(査読有) doi: 10.1016/j.abb.2016.09.011

7. Noguchi, T., Tsuchida, M., Kogue, Y., Spadini, C., Hirata, Y., Matsuzawa, A. Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange factor 1 (BIG1) governs the recruitment of tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 (TRAF2) to tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1) signaling complexes.

Int. J. Mol. Sci., 17, E1869 (2016).

(査読有) doi: 10.3390/ijms17111869

[学会発表](計17件)

1. Midori Suzuki, Natsumi Mutoh, Sayoko Miyagawa, Yusuke Hirata, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa: Novel mechanisms of ALIS-mediated cellular dysfunction and death caused by antibacterial cephalosporins, The 12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens (ICEM-ACEM 2017), 2017.11.12-16, Seoul, Korea.

2. Atsushi Matsuzawa: Signaling mechanisms sensing and responding to various types of stress, The 14th International Conference on Flow Dynamics, "Advanced Physical Stimuli and

Biological Responses (Symposium)", 2017.11.1-3, Sendai, Japan.

3. 武藤夏美, 鈴木碧, 宮川紗央子, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による細胞内凝集体 ALIS を介した新たな細胞障害・細胞死誘導機構, 第 56 回日本薬学会東北支部大会, 2017.10.21, 青森.

4. **松沢厚**: ストレス応答シグナルの多様な翻訳後修飾を介した新たな制御機構, 第 44 回日本毒性学会学術年会, 2017.7.10-12, 横浜.

5. 関口雄斗, 土田芽衣, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: 分子標的薬ゲフィチニブが誘導する新たな細胞障害亢進機構, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2017.9.1-2, 仙台.

6. 武藤夏美, 鈴木碧, 宮川紗央子, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による細胞内凝集体 ALIS を介した新たな細胞障害・細胞死誘導機構, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2017.9.1-2, 仙台.

7. 鈴木碧, 武藤夏美, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による細胞障害誘導機構, 第 44 回日本毒性学会学術年会, 2017.7.10-12, 横浜.

8. 土田芽衣, 関口雄斗, 工藤勇気, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: ゲフィチニブによる新規細胞毒性作用の分子機構, 第 44 回日本毒性学会学術年会, 2017.7.10-12, 横浜.

9. 宮川紗央子, 武藤夏美, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による細胞障害誘導機構, 日本薬学会第 137 年会, 2017.3.24-27, 仙台.

10. 野口拓也, 西舘亜紀子, 松井稜祐, 平田祐介, **松沢厚**: バンコマイシンによる IL-1 分泌機構の解析, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016.11.30-12.2, 横浜.

11. 松井稜祐, 西舘亜紀子, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: バンコマイシンによる IL-1 分泌機構の解析, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.9.25-27, 仙台.

12. 武藤夏美, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による酸化ストレス依存的な細胞障害機構, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.9.25-27, 仙台.

13. **松沢厚**: ストレス応答シグナルのユビキチン化関連酵素群による新たな調節機構, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー (シンポジウム「生体防御・ストレス応答

研究の新展開」), 2016.9.10-11, 東京.

14. Yusuke Hirata, Miki Takahashi, Yuki Kudoh, Takuya Noguchi, **Atsushi Matsuzawa**: Trans-fatty acids promote extracellular ATP-induced apoptosis through enhancing ROS-dependent activation of p38 MAP kinase, Forum 2016 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology, 2016.9.10-11, Tokyo, Japan.

15. 野口拓也, 武藤夏美, 平田祐介, **松沢厚**: セファロスポリン系抗菌薬による酸化ストレス依存的な細胞障害機構, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2016.9.10-11, 東京.

16. 西舘亜紀子, 平田祐介, 野口拓也, **松沢厚**: バンコマイシンによる IL-1 分泌機構の解析, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2016.9.10-11, 東京.

17. **松沢厚**: 多様なストレス感知-応答制御の仕組み - 衛生薬学の視点からのストレス応答シグナル研究の展開 -, 第 3 回衛生薬学・環境トキシコロジー 若手研究者の会 シンポジウム (特別講演), 2016.9.9, 東京.

〔図書〕(計 3 件)

1. **松沢厚**, 一條秀憲: ASK1 キナーゼによるレドックスシグナル制御-多彩な翻訳後修飾を介したシグナル制御とその破綻による疾患, **実験医学 増刊「レドックス疾患学」, 実験医学**, 羊土社, 36(5), 692-698, 2018.

2. **松沢厚**: **衛生薬学 健康と環境** (第 6 版), 永沼章・姫野誠一郎・平塚明 編, 丸善出版, 151-201 (5・3~5・6 節), 2018.

3. **松沢厚**: キナーゼシグナルを厳密に制御する多様なユビキチン化関連酵素群の生理機能, **日本応用酵素協会誌**, 日本応用酵素協会, 51, 7-15, 2016.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~eisei/eisei.HP/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松沢 厚 (MATSUZAWA, Atsushi)

東北大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号: 80345256