

令和 2 年 4 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10000

研究課題名(和文) 関節リウマチの治療応用を目標とした炎症収束性脂質因子及び受容体の機能解析

研究課題名(英文) Analysis of mechanism of receptor for specialized pro-resolving mediator in order to innovation of therapeutic strategy on rheumatoid arthritis

研究代表者

村上 孝作 (Murakami, Kosaku)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：70599927

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)：実験的関節炎において、FPR2のリガンドであるResolvin D1 (RvD1) を投与後もコントロール群と比較して明らかな改善効果が認められなかった。また、転写因子の一つであるSREBP1がTLR4刺激に応答してRvD1の基質であるドコサヘキサエン酸発現を誘導することから、ヒト変形性関節症(OA)もしくは関節リウマチ(RA)の手術時に獲得し得た脂肪組織を用いて、組織内マクロファージにおけるSREBP1の発現量を検討した。その結果、SREBP1は膝蓋下脂肪組織において発現量が低下していることが、サンプル数が増えることによって統計学的に有意差をもって明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じて、炎症収束性の脂質分子であるResolvin D1 (RvD1) はT細胞に依存する関節炎の誘導には無効である可能性が示唆された。その理由として、RvD1の受容体であるFPR2は炎症誘導分子である血清アミロイドA蛋白(SAA)の受容体でもあり、関節炎が生じた環境下ではSAA濃度が相対的に高いためRvD1の効果が限定的であったことが示唆された。

また、脂質合成に関わる転写因子であるSREBP1は関節炎の炎症局所にある脂肪組織内マクロファージで極端に発現が抑制されていることから、脂質代謝と関節炎の関連が示唆される結果が得られたと考えている。

研究成果の概要(英文)：Resolvin D1 is one of the specialized pro-resolving mediator and ligand of N-formyl peptide receptor 2 (FPR2), which is a G-protein coupled receptor (GPCR) located on the surface of macrophage, did not exert ameliorative effect on arthritis model mouse.

SREBP1, which was reported as a contributor to resolution of pro-inflammatory TLR4 signaling by reprogramming fatty acid metabolism, showed lower expression levels in CD14 positive cells extracted from infrapatellar fat pad of osteoarthritis or rheumatoid arthritis patients. These results suggested that macrophages differentiation can be reprogrammed by fatty acid metabolism.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：関節リウマチ 炎症収束性脂質因子 FPR2 SREBP1

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ(Rheumatoid arthritis, RA)は自己免疫現象を背景として滑膜増殖や関節破壊を来す炎症性疾患である。その局所では種々の炎症性メディエーターが産生される。特に、n-6系PUFA (polyunsaturated fatty acid, 多価不飽和脂肪酸)に分類されるアラキドン酸(AA)はプロスタグランジンやロイコトリエンに変換されて滑膜炎の増悪に寄与している。アスピリンやCOX-2阻害薬が関節炎や局所疼痛を部分的に抑制することも、関節炎におけるAAカスケードの重要性を示唆している。

一方、n-3系PUFAであるエイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)は、炎症局所において強力な炎症収束作用を有するメディエーター (Specialized pro-resolving mediators; SPM)に変換され、AAに由来する炎症性メディエーターを強力に阻害するのみならず、好中球遊走の抑制やマクロファージの非催炎性貪食を促進することが明らかとなった[1]。

近年、RAとSPMとの関連性についていくつかの報告が上梓された。RA滑液中では種々のSPMが検出される[2]。また、SPMの一つであるレゾルビンD1 (RvD1)が関節炎の発症や進展を抑制する効果を有することが明らかとなっている。

一部のSPMでは細胞表面に発現する受容体が同定されている。Formyl peptide receptor 2 (FPR2)はリポキシンA4 (LXA4, AA由来のSPM)やRvD1 (DHA由来)に、Chemokine-like receptor 1 (CMKLR1)はレゾルビンE1 (RvE1, EPA由来)と結合し炎症収束を促す。Leukotriene B4 receptor 1 (BLT1)はロイコトリエンB4 (LTB4, AA由来)にアゴニストとして結合し炎症惹起に働く一方で、レゾルビンE1 (RvE1)はアンタゴニストとしてその作用を阻害することが知られている。

2. 研究の目的

自己免疫性関節炎の病態にFPR2が及ぼす影響を明らかにする。特に、RvD1がFPR2依存性かつSAAに拮抗し炎症収束を促進することを示す。具体的には、研究期間内に、以下の点を明らかにする

- () FPR2発現T細胞の機能を解析する。特にFPR2がどのような炎症性サイトカインを誘導し、Th1, Th2, Th17等のような分化傾向を示すか検討する。
- () マウス実験的関節炎におけるFPR2の関与を検討する。特にT細胞上のFPR2とRvD1、SAAの拮抗作用について検討し、RvD1が炎症収束に寄与することを示す。

3. 研究の方法

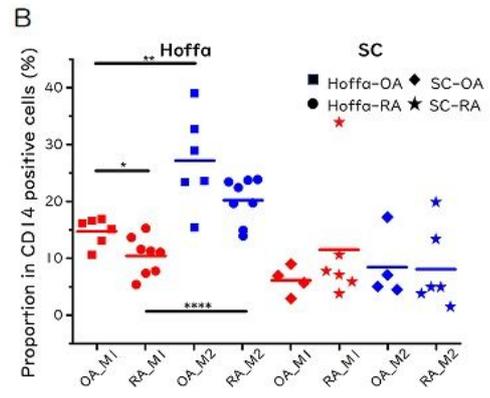
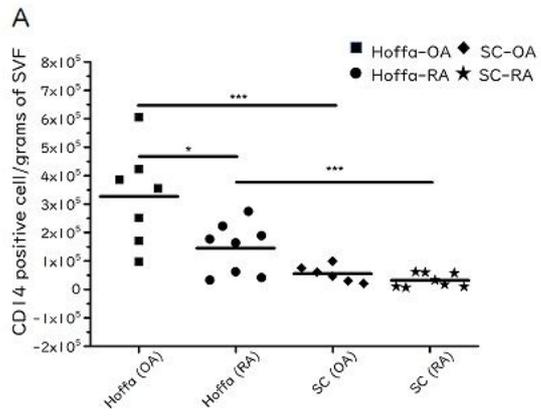
ヒト末梢血におけるCD4陽性T細胞のFPR2発現有無における機能的差異を検討する。

ベクターを用いてFPR2強制発現T細胞を作成し、RvD1若しくはSAA刺激による影響を検討する。また、マウス実験的関節炎にFPR2発現T細胞を養子移入し、病態に及ぼす影響を解析する。

4. 研究成果

関節炎におけるFPR2 (formyl peptide receptor2)の機能について：T細胞表面上のFPR2陽性細胞がごく少数であったことが明らかとなった。すなわちT細胞ではなく、既報通り単球・マクロファージ系においてFPR2の機能が重要であると考えられたため、関節炎の発症の時間的経過とFPR2の発現量の解析を行った。実験1：ウシType IIコラーゲンにて誘導される実験的関節炎において、FPR2のリガンドであるResolvin D1 (RvD1)を抗原投与後より合計8日間、100 μ gずつ腹腔内投与を行った。その後の関節炎の変化についてコントロール群と比較したが、関節腫脹の程度に関して有意な違いは認められなかった。また、関節炎誘導マウスにおいて抗原刺激前後における脾細胞およびリンパ節内のFPR2蛋白発現量をウエスタンブロッティング法を用いて確認したところ、FPR2はリンパ節では蛋白発現が認められず、脾細胞においては抗原刺激前には発現を認めたのに対して抗原刺激後7日以後より発現が消失することが判明した。

実験2：2017年に発表された大石らの報告(Cell Metabolism 25, 412-427, 2017)では、転写因子の一つであるSterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1がTLR4刺激に応答してRvD1の基質であるドコサヘキサエン酸発現を誘導することが明らかとなった。我々は、ヒト変形性関節症(OA)もしくは関節リウマチ(RA)の手術時に獲得し得た脂肪組織を用いて、組織内マクロファージにおけるSREBP1の発現量を検討した。その結果、SREBP1はOA, RAともに皮下脂肪と比較して、より炎症局所に近い膝蓋下脂肪組織において発現量が低下していることが明らかとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 馬 舒荷
2. 発表標題 膝関節周囲脂肪組織内マクロファージの解析
3. 学会等名 第4回骨免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Murakami, I. Murakami, A. Ioan-Facsinay, M. Giera, M. Hashimoto, A. Yoshida, T. Usui, N. Kuramoto, R. Nakashima, Y. Imura, H. Yoshifuji, K. Ohmura, T. Mimori
2. 発表標題 LIPID PROFILING OF PLASMA IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY and TANDEM MASS SPECTROMETRY
3. 学会等名 2017 Congress of European League Against Rheumatism (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ma S, Murakami K, Hashimoto M, Tanaka M, Murata K, Nishitani K, Ito H, Mimoti T.
2. 発表標題 Variation in macrophages differentiation and SREBF1 expression between infrapatellar fat pad and subcutaneous tissues from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients
3. 学会等名 2019 Congress of European League Against Rheumatism (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----