

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（A）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18209026
 研究課題名（和文） デンドライトを起点とするストレスに対するサーベイランスとシグナルネットワーク形成
 研究課題名（英文） Stress-surveillance and signal network originated from dendrite of various cells
 研究代表者
 田中 良哉（TANAKA YOSHIYA）
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号：30248562

研究成果の概要（和文）：樹状細胞や神経、皮膚ランゲルハンス細胞、骨細胞などは、細胞表面に多数の樹状突起「デンドライト」を発現する。免疫、骨、皮膚、神経、脂質等の代謝系に存在するデンドライトを有する細胞間に於いて、デンドライトはストレスセンサーとして多様なストレスを受容し、転写調節などを介して化学的シグナルに変換し、多様な生体防御反応過程をイニシエーションすることを明らかにしてきた。

研究成果の概要（英文）：“Dendrite” is expressed on various cells including neuron in CNS and periphery, dendritic cells in immune system, Langerhans cells in skin, osteocyte in bone and so on. The dendrite receives multiple stresses and functions as stress-surveillance sensors. The cells possessing the dendrite receive stress-stimulation, transform it to multiple intracellular signals through nucleic transcription and transduce the signals to various defensive cellular functions in central nerve, immune, skin, metabolic systems in human body. Thus, we postulate that the dendrite plays a pivotal role in the self-defense system through initiating multiple stress-stimulation as a central sensor.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	9,900,000	2,970,000	12,870,000
2007年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2008年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2009年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
年度			
総計	37,800,000	11,340,000	49,140,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般

キーワード：ストレス科学

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞表面に多数存在する「デンドライト(dendrite)」の抗原刺激に対するセンサーとしての機能、骨、皮膚、脂質系への刺激起点としての役割は不詳であった。特に免疫系

では、抗原提示細胞としての樹状細胞の役割が解明されてきたが、樹状細胞表面に多数存在するデンドライトのストレスセンサーとしての機能、及び、シグナル起点としての役割は不詳であった。また、デンドライトで受

容した物理的ストレスを細胞内化学的シグナルへ変換する機構、デンドライトを介して細胞外へ化学的情報を提供し、更に、組織の支持に代表される物理的刺激へと再構成する機構も不詳であった。そこで、本研究では、免疫、骨、皮膚、神経、脂質等の代謝系によるストレスに対する生体制御を、デンドライトによるネットワークという枠組みの基に整理し直し、特異的な制御とともに、普遍的な制御系の確立をめざす国内外に既報がない視点からの研究をめざした。

2. 研究の目的

樹状細胞や神経、皮膚ランゲルハンス細胞、骨細胞などは、細胞表面に多数の樹状突起「デンドライト」を発現する。デンドライトはストレスセンサーとして多様なストレスを受容し、化学的シグナルに変換して多様な生体防御反応過程をイニシエーションすることを当初の目的とした。また、免疫、骨、皮膚、神経、脂質等の代謝系に存在するデンドライトを有する細胞間に於いて、デンドライトのストレスセンサーとしての役割、デンドライトを介する分子レベルでのシグナル伝達系の普遍性があることを明らかにし、それを基に上記の多様に異なる系でのストレス制御に関与するデンドライトの役割を解明し、機能連携の枠組みを整理し、最終的には病態解明や治療応用への礎とするべく研究を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 免疫系におけるデンドライトを介するシグナルネットワークの解明 (田中担当) : 樹状細胞における神経ペプチドであるドパミンを合成・放出、及び、T細胞上のD1様受容体を介するTh17細胞への分化誘導機構を解明し、さらに、関節炎モデルを用いてストレス制御、及び、自己免疫制御のシステムを明らかにし、病態解明に留まらず治療応用へと展開していく。

(2) 神経系デンドライトおよび軸索終末での相互情報伝達機構の解明 (上田担当) : 遺伝子改変動物を用いて、ストレス反応に対して、視床下部でのアドレノメデュリンなどのペプチドと下垂体後葉ホルモン、青斑核でのペプチドとノルアドレナリンの合成誘導機構、および、神経分泌ニューロンの細胞体およびdendriteでの神経伝達ペプチド生成機構を検討する。

(3) デンドライトを介する骨系細胞ネットワークの役割の解明 (中村担当) : NOS欠損マウスのアンジオテンシン変換酵素活性や動脈硬化と骨代謝異常との関連性、及び、高脂血症における酸化LDLと骨系細胞のアポトーシスを介した骨系細胞デンドライトネットワークの抑制について研究を進める。

(4) 表皮デンドライト細胞と角化細胞とのシグナルネットワークの解明 (戸倉担当) : マウスの植皮モデルやUVB照射による免疫抑制モデルを用いて抑制性サイトカインIL-10産生を介した抑制性T細胞の誘導機構を解明し、殊に、RANKLを介したシグナルに注目して皮膚、免疫、骨の3つの系の普遍性を明らかにする。

(5) 外界ストレスに対するdendrite細胞の生体防御反応の基盤を担うクロマチン複合体/転因子の解析 (河野担当) : 抗酸化ペプチドであるペロキシレドキシシンファミリーであるPRDXに着目し、培養細胞系でのストレス応答の鍵を握る転写因子をコアとするプロテオーム解析、及び、関連分子の同定を行い、DNA損傷シグナル等の活性化を惹起する酸化ストレスに対して、生命維持に重要な抗酸化システムの解明を行う。

4. 研究成果

(1) 免疫系におけるデンドライトを介するシグナルネットワークの解明 (田中担当) : 樹状細胞はデンドライトを介して多様なストレスを受容し、化学的シグナルに変換することを明らかにした。即ち、樹状細胞は神経ペプチドであるドパミンを合成・放出し、T細胞上のD1様受容体を介して、cAMPシグナルに転換し、Th1細胞分化、Th17細胞への分化を誘導することを明らかにした。さらに、関節リウマチ患者の滑膜をSCIDマウスに移植して作成したリウマチモデルマウスでは、D1様受容体阻害薬でリウマチモデルの関節炎が制御されることを示し、神経ニューロンと同様に樹状細胞とT細胞の免疫シナプスを介して、T細胞の活性化や分化を調節することを解明した。以上、デンドライトを有する樹状細胞は神経ペプチドであるドパミンを合成・放出し、Th17細胞への分化を誘導して生体防御を強化する事を見出し、デンドライトを起点とする神経-免疫軸の存在を明らかにした。

(2) 神経系デンドライトおよび軸索終末での相互情報伝達機構の解明 (上田担当) : ストレスセンサーである視床下部に注目し、神経系への生理的役割を検討してきた。下垂体後葉ホルモン遺伝子に蛍光タンパク遺伝子を挿入した融合遺伝子導入ラットを世界で初めて作出した。そのラットを用いたストレス実験では、種々のストレス刺激により視床下部ではアドレノメデュリン(AM2)と下垂体後葉ホルモンが、青斑核ではAM2とノルアドレナリンの合成が誘導され、神経分泌ニューロンの細胞体およびdendriteではストレス刺激からペプチド生成へと変換されることが解明された。また、後葉ホルモン系による疼痛ストレスの緩和、ストレス下の摂食調節を見出し、ストレス刺激時の脳内神経回路

を解明した。以上、下垂体後葉ホルモン系がストレス反応の中軸である視床下部-下垂体-副腎軸に関与することを解明した。

(3) デンドライトを介する骨系細胞ネットワークの役割の解明 (中村担当) : 一酸化窒素合成酵素 (NOS) 完全欠損マウスを用いた検討により、NOS は低骨代謝回転と共に、骨形成の強力な抑制により骨量を減少させたが、その機序として NOS ストレスによるアンジオテンシン変換酵素活性を介した骨系細胞デンドライトネットワークの抑制が示唆された。以上より、アンジオテンシン変換酵素活性や動脈硬化と骨代謝異常との関連性、及び、高脂血症における酸化 LDL と骨系細胞のアポトーシスを介した骨系細胞デンドライトネットワークの抑制を解明した。

(4) 表皮デンドライト細胞と角化細胞とのシグナルネットワークの解明 (戸倉担当) : マウスの植皮モデルや UVB 照射による免疫抑制モデルを用いて、デンドライトを有する皮膚樹状細胞である Langerhans 細胞は、植皮や UVB 等のストレスにより RANKL/RANK を介する角化細胞との相互作用により抑制性サイトカイン IL-10 を産生し、制御性 T 細胞を誘導して免疫抑制を齎すことを解明した。また、MSH による皮膚のデンドライトを有する細胞からのメラニン産生、 α MSH・紫外線による免疫抑制を見出し、また、消化管の cholecystkinin 受容体 CCK2R は、脳、皮膚にも存在し、かゆみを制御している知見を得た。即ち、皮膚のストレス刺激に対する反応は、神経-皮膚・免疫軸を介して指令統御を受けるとの成績を得た。

(5) 外界ストレスに対する dendrite 細胞の生体防御反応の基盤を担うクロマチン複合体/転因子の解析 (河野担当) : 酸化ストレスは DNA 損傷シグナル等の活性化を惹起し様々な疾病の発症や進展に関わるが、酸化ストレスに対する DNA 損傷シグナルを中心に、ストレスセンサーの分子機構を解明した。抗酸化ペプチドである PRDX1 と 5 は転写因子 ETS とクロマチン蛋白 HMGB1 の会合を介して抗酸化システムを構成すること、PRDX2 の発現は FOXO3 で制御され、生命維持に重要な抗酸化システム存在を解明した。DNA 損傷シグナルを惹起する抗がん剤シスプラチンに対する耐性細胞では、概日リズム遺伝子 Clock が高発現し、Tip60 の発現を制御して DNA 修復遺伝子 ERCC1 を調節することを見出し、酸化ストレスに対する生命維持に重要な抗酸化システム分子機構を解明した。

以上、生体内には樹状細胞や神経、ランゲルハンス細胞、骨細胞など、細胞表面に多数の樹状突起「デンドライト」を発現する細胞が存在し、デンドライトを介して多様なストレスを受容し、化学的シグナルに変換して複雑な生体防御反応をイニシエーションする

ことを解明した。

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 12 件)

- ①. Tanaka Y, Takeuchi T, Mimori T, Saito K, Nawata M, Kameda H, Nojima T, Miyasaka N, Koike T. Discontinuation of infliximab after attaining low disease activity in patients with rheumatoid arthritis, RRR (remission induction by remicade in RA) study. *Ann Rheum Dis* (in press) 査読有
- ②. Sawamukai N, Yukawa S, Saito K, Nakayama S, Kambayashi T, Tanaka Y. Mast cell-derived tryptase inhibits apoptosis of human rheumatoid synovial fibroblasts via rho-mediated signaling. *Arthritis Rheum* (in press) 査読有
- ③. Nakano K, Higashi T, Tanaka Y, (他 3 名、5 番目) Dopamine released by dendritic cells polarizes Th2 differentiation. *Int Immunol* (2009) **21**, 645-654 査読有
- ④. Fujihara, H. Ueta, Y. Suzuki, H. (他 5 名、2 番目) (2009) Robust up-regulation of nuclear red fluorescent-tagged Fos marks neuronal activation in green fluorescent vasopressin neurons after osmotic stimulation in a double transgenic rat. *Endocrinology* (in press) 査読有
- ⑤. Suzuki, H. Kawasaki, M. Ueta, Y. (他 10 名、13 番目) (2009) Exaggerated response of a vasopressin-enhanced green fluorescent protein transgene to nociceptive stimulation in the rat. *J Neuroscience* (in press) 査読有
- ⑥. Hosoi, F. Izumi, H. Kohno, K. (他 7 名、8 番目) N-myc downstream regulated gene 1/Cap43 suppresses tumor growth and angiogenesis of pancreatic cancer through attenuation of inhibitor of κ B kinase β expression. *Cancer Res.*, **69**: 4983-4991, 2009. 査読有
- ⑦. Shiota, M. Izumi, H. Kohno, K. (他 12 名、15 番目) Programmed cell death protein 4 down-regulates Y-box binding protein-1 expression via a direct interaction with Twist1 to suppress cancer cell growth. *Cancer*

- Res.*, 69: 3148-3156, 2009 査読有
- ⑧. Kabashima K, Sakabe J-I, Tokura Y. (他 3 名、6 番目) Involvement of Wnt signaling in dermal fibroblasts. *Am J Pathol* (in press) 査読有
- ⑨. Sugita K, Kabashima K, Tokura Y. (他 5 名、8 番目) Inducible Nitric Oxide Synthase Downmodulates Contact Hypersensitivity by Suppressing Dendritic Cell Migration and Survival. *J Invest Dermatol* (in press) 査読有
- ⑩. Nakamura M, Tokura Y. The localization of label-retaining cells in eccrine glands. *J Invest Dermatol*. 2009, 129:2077-8. 査読有
- ⑪. Yoshiki R, Kabashima K, Tokura Y. (他 3 名、6 番目) IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells are responsible for depressed contact hypersensitivity in grafted skin. *J Invest Dermatol* 2009, 129:705-13. 査読有
- ⑫. Yamane H, Sakai A, Nakamura T (他 3 名、6 番目) The anabolic action of intermittent PTH in combination with cathepsin K inhibitor or alendronate differs depending on the remodeling status in bone in ovariectomized mice. *Bone* 44: 1055-1062, 2009. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. Discontinuation of infliximab therapy is possible after acquiring remission in patients with rheumatoid arthritis (RA): first report on RRR (remission induction by remicade in RA) study. The Annual European Congress of Rheumatology 2009, Copenhagen 平成 21 年 6 月 12 日
- ② Y. Tanaka, M. Suzuki, H. Nakamura, S. Toyozumi, S. H. Zwillich. The oral Jak inhibitor CP-690,550 in combination with methotrexate is efficacious, safe and well tolerated in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to MTX alone. The Annual European Congress of Rheumatology 2009, Copenhagen 平成 21 年 6 月 12 日
- ③ Tanaka Y. Rheumatoid arthritis in the context of bone disease: a recent paradigm shift of the disease control. The 6th International Bone Biology Forum, Susono 平成 21 年 8 月 21 日

- ④ Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. Discontinuation of infliximab after attaining low disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an interim report on RRR (remission induction by remicade in RA) study. The 73rd National Meeting of American college of Rheumatology, Philadelphia 平成 21 年 10 月 19 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: Akt シグナル経路の活性化阻害を目的として使用するレフルノミド
 発明者: 澤向範文、田中良哉
 権利者: 澤向範文、田中良哉
 種類: 特願
 番号: 特願 2005-81972
 出願年月日: 2005 年
 国内外の別: 国内

○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: 特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 良哉 (TANAKA YOSHIYA)
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 30248562

(2) 研究分担者

上田 陽一 (UETA YOUTI)
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 10232745
 河野 公俊 (KOUNO KIMITOSHI)
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 00153479
 戸倉 新樹 (TOKURA YOSHIKI)
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 00172156
 中村 利孝 (NAKAMURA TOSHITAKA)
 産業医科大学・医学部・教授
 研究者番号: 50082235