

令和 5 年 4 月 18 日現在

機関番号：13701

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K21582

研究課題名（和文）慢性感染症研究から見出す新たな抗老化標的

研究課題名（英文）Discovery of a novel anti-aging target by researching chronic infectious disease

研究代表者

前川 洋一（MAEKAWA, YOICHI）

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10294670

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：老化の緩徐化には 過度の炎症を抑制することが有効である。本研究では慢性感染症研究から見出した病原体由来分子による炎症の抑制作用を応用し抗老化の新たな予防概念の創出と創薬シーズの探索を目的とした。病原体由来因子Tpp53はマクロファージからのIL-6産生を抑制する作用を持つ。この知見に基づき、Tpp53により発現が変化する遺伝子群を網羅的に解析した結果、Slamf9をTpp53受容体の候補として見出した。Slamf9遺伝子欠損マクロファージ細胞株では、Tpp53の効果であるIL-6産生の抑制が解除された。この結果を受けSlamf9遺伝子を欠損するマウスを作出し老化との関連を解析している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性炎症は老化を促進するとともに種々の疾病と関係している。炎症の抑制を目的とした研究やその成果からその制御方法が確立されようとしている。本研究はこれまでの研究とは異なる視点から炎症を抑制する方法を開発することを目指し、その基盤となる物質を見出している。炎症は複雑な生命現象であるため単一の方法での制御は困難であり、我々の研究を基にした炎症の制御方法や考え方が炎症の多重的制御に貢献できる可能性があると考えている。

研究成果の概要（英文）：Inhibition of excessive inflammation is effective in slowing down the aging process. In this study, we aimed to create a new concept of anti-aging prevention and search for drug seeds by applying the suppression of inflammation by pathogen-derived molecules that we discovered in our research on chronic infectious diseases. The pathogen-derived factor Tpp53 inhibits IL-6 production from macrophages. Based on this finding, we comprehensively analyzed the genes whose expression is altered by Tpp53 and found Slamf9 as a candidate for Tpp53 receptor. Based on these results, we generated Slamf9 gene-deficient mice and analyzing the relationship between Tpp53 and aging.

研究分野：寄生虫学

キーワード：慢性炎症 免疫回避 抗炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

健康寿命延伸のためには老化を緩徐にすることが望ましい。老化には炎症による細胞・組織のダメージとその修復が関連する。したがって、老化の緩徐化には過度の炎症を抑制する必要がある。一方、老化した細胞からは炎症性サイトカインが産生される (senescence-associated secretory phenotype, SASP) ことで炎症が誘導され、さらなる細胞の老化を引き起こす。SASP による老化スパイラルを断ち切ることが老化を防止し健康寿命の延伸につながる。我々は従来の慢性感染症研究から、病原体由来分子 Tpp53 が炎症反応を抑制することを見出した。また、Tpp53 による炎症抑制作用に関連する宿主受容体候補分子が存在すると想定している。このことから、病原体由来分子-宿主受容体軸が過度の炎症を抑制し、細胞老化・個体老化を防ぐことができるのではないかとの着想を得た。病原体由来炎症抑制分子は宿主との生存競争を勝ち抜いた病原体が獲得したものであり、宿主の炎症を抑制するが宿主には過大なダメージを与えないという特性を有している。この特性を損なわないようにかつ炎症抑制作用を最大限に発揮させる様な創薬 (宿主受容体の低分子アゴニストやアゴニスト抗体など) が可能になれば、炎症を適切かつ安全にコントロールすることができ、結果として SASP による老化スパイラルを断つことができると考えている。

2. 研究の目的

本研究では、病原体由来分子による炎症抑制の分子基盤を明らかにし、その成果に基づく抗老化の新たな予防概念の創出と創薬シーズの探索を目的とした。

3. 研究の方法

1) Tpp53 によるマクロファージの遺伝子発現変化

組換え Tpp53 をマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 (RAW 細胞) に作用させた後 IL-6 を添加した。LPS 添加 24 時間後に細胞を回収し RNA を調整した。得られた RNA を用いてトランスクリプトーム解析を行った。

2) CRISPR/Cas9 法による RAW 細胞のゲノム編集

RAW 細胞の内在性遺伝子について CRISPR/Cas9 法を用いてゲノム編集を行なった。当該遺伝子のゲノム編集された RAW 細胞を Tpp53 並びに LPS で刺激し IL-6 産生を qPCR 法および ELISA 法にて解析した。

3) CRISPR/Cas9 法によるゲノム編集マウスの作出

マウス受精卵の当該遺伝子をコードするゲノムを CRISPR/Cas9 法の常法に従い編集を行い、遺伝子ゲノム編集マウスを作出した。得られたマウスの遺伝子タイピングを行い当該遺伝子ゲノムが編集され遺伝子産物 (タンパク質) が発現されない遺伝子座を持つマウスを選別・交配し、当該遺伝子ゲノム編集マウス (KO マウス) を得た。

4. 研究成果

1) Tpp53 によるマクロファージの遺伝子発現変化

RAW 細胞をあらかじめ Tpp53 で処置しておくことでその後の LPS 刺激による IL-6 産生が抑制されることをこれまでの研究から見出している。Tpp53 の作用機序を明らかにする目的で LPS 刺激による TLR シグナル経路への Tpp53 の作用を検討したところシグナル経路の一部を抑制することがわかったが、生化学的解析ではその分子基盤を明らかにすることはできなかった。そこで、マクロファージの活性化に対する Tpp53 の作用をより広範に解析するため、トランスクリプトーム解析を行なった。Tpp53 を作用させるだけ (LPS 刺激なし) でもいくつかの遺伝子の発現が変化すること、また LPS 刺激を加えると IL-6 をはじめ炎症性サイトカインやその関連遺伝子の発現が低下することが明らかとなった。また、この解析から炎症を制御するある遺伝子に着目し Tpp53 との関連を解析した。

2) 遺伝子ゲノム編集した RAW 細胞での Tpp53 の効果

トランスクリプトーム解析において着目したある遺伝子について、Tpp53 の受容体の可能性について検討することとした。そこで、CRISPR/Cas9 法を用いて RAW 細胞での当該遺伝子ゲノムを編集し当該遺伝子産物の発現を消失させ、Tpp53 の効果を検討した。その結果、当該遺伝子ゲノム編集細胞では Tpp53 による IL-6 産生抑制効果が減弱することを見出した。この結果から当該遺伝子が Tpp53 の受容体であることを直接証明している訳ではないが、当該遺伝子と Tpp53 の効果発現機序には何らかの関係があると考えさらに解析を進めることとした。

3) 当該遺伝子ゲノム編集マウスの作出と解析

細胞株を用いた解析から病原体由来炎症抑制分子 Tpp53 と宿主のある遺伝子との関連が明らかになったため、さらに生理的・病理的な解析を行うことができる当該遺伝子ゲノム編集マウスの作出を行なった。ゲノム編集細胞株の作製と同様に CRISPR/Cas9 法を用いて当該遺伝子ゲノム

編集マウス (KO マウス) を作製した。ヘテロマウス同士の交配から KO マウスはメンデルの法則に従い出生し、成獣まで対照群の野生型マウスを同等に成長した。一方、KO マウス同士の交配では妊娠・分娩に至る頻度が低い (子孫ができにくい) 傾向があった。ヘテロ同士の交配により得られた KO マウスを用い予備的感染実験を行なったところ、KO マウスでは野生型マウスと比較して感染病原体数が多い傾向にあった。当該遺伝子産物が炎症の抑制に関与しているのであれば、KO マウスでは強い炎症応答による病原体排除が起こり、結果として病原体数は野生型マウスより減少すると想定していた。しかし予備的実験結果はその想定とは逆の結果を示しているため、より詳細に検討していく必要がある。想定とは異なった理由を考えると、当該遺伝子産物と Tpp53 は生理的な条件である生体内では炎症の抑制という点では関連が小さい可能性がある。あるいは病原体由来の炎症抑制分子 Tpp53 はそれ単独で解析をおこなった場合には炎症抑制効果を発揮するが、感染という現象の中では Tpp53 の担っている役割はそれほど大きくないのかもしれない。しかし、本研究では感染症における Tpp53 分子の役割や作用機序の解明を第一義的な目的としている訳ではなく、抗炎症作用の標的あるいは関連分子としての当該遺伝子産物の機能を解明することが目的である。その目的を達成するための研究を今後実施していく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Dewayani Astri, Kamiyama Naganori, Sachi Nozomi, Ozaka Sotaro, Saechue Benjawan, Ariki Shimpei, Goto Mizuki, Chalalai Thanyakorn, Soga Yasuhiro, Fukuda Chiaki, Kagoshima Yomei, Maekawa Yoichi, Kobayashi Takashi	4. 巻 613
2. 論文標題 TRAF6 signaling pathway in T cells regulates anti-tumor immunity through the activation of tumor specific Th9 cells and CTLs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 26 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.04.125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyai M, Kanayama T, Hyodo F, Kinoshita T, Ishihara T, Okada H, Suzuki H, Takashima S, Wu Z, Hatano Y, Egashira Y, Enomoto Y, Nakayama N, Soeda A, Yano H, Hirata A, Niwa M, Sugie S, Mori T, Maekawa Y, Iwama T, Matsuo M, Hara A, Tomita H	4. 巻 3
2. 論文標題 Glucose transporter Glut1 controls diffuse invasion phenotype with perineuronal satellitosis in diffuse glioma microenvironment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology Advances	6. 最初と最後の頁 Vdaa150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/oaajnl/vdaa150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiyama Taishin, Horie Kenta, Hinoi Eiichi, Hiraiwa Manami, Kato Akihisa, Maekawa Yoichi, Takahashi Akihisa, Furukawa Satoshi	4. 巻 6
2. 論文標題 How does spaceflight affect the acquired immune system?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 npj Microgravity	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41526-020-0104-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuta T., Okada H., Takemura G., Suzuki K., Takada C., Tomita H., Suzuki A., Oda K., Uchida A., Matsuo S., Fukuda H., Yano H., Muraki I., Zaikokuji R., Kuroda A., Nishio A., Sampei S., Miyazaki N., Hotta Y., Yamada N., Watanabe T., Morishita K., Doi T., Yoshida T., Ushikoshi H., Yoshida S., Maekawa Y., Ogura S.	4. 巻 未定
2. 論文標題 Neutrophil Elastase Inhibition Ameliorates Endotoxin-Induced Myocardial Injury Accompanying Degradation of Cardiac Capillary Glycocalyx	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Shock	6. 最初と最後の頁 1-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SHK.0000000000001482	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishide Shunji, Matsunaga Shinji, Shiota Masayuki, Yamaguchi Takehiro, Kitajima Shojiro, Maekawa Yoichi, Takeda Norihiko, Tomura Michio, Uchida Junji, Miura Katsuyuki, Nakatani Tatsuya, Tomita Shuhei	4. 巻 21
2. 論文標題 Controlling the Phenotype of Tumor-Infiltrating Macrophages via the PHD-HIF Axis Inhibits Tumor Growth in a Mouse Model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 205 ~ 205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.10.031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osada Yoshio, Morita Kentaro, Tahara Sayaka, Ishihara Tsubasa, Wu Zhiliang, Nagano Isao, Maekawa Yoichi, Nakae Susumu, Sudo Katsuko, Kanazawa Tamotsu	4. 巻 42
2. 論文標題 Th2 signals are not essential for the anti arthritic effects of <i>Trichinella spiralis</i> in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Parasite Immunology	6. 最初と最後の頁 e12677
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pim.12677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Sukhonthip Khueangchiangkhwang, Zhiliang Wu, Yoichi Maekawa
2. 発表標題 Role of extracellular vesicles from parasitic nematode, <i>Trichinella spiralis</i>
3. 学会等名 第76回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 呉志良、Sukhonthip Khueangchiangkhwang、前川洋一
2. 発表標題 免疫環境の変化に対する織毛虫の対応
3. 学会等名 第76回日本寄生虫学会西日本支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shin-ichi Tsukumo, Yoichi Maekawa, Keishi Fujio, Koji Yasutomo
2. 発表標題 AFF3 regulates class switch recombination by enhancing mutagenesis of switch region
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mami Sumiyoshi, Yui Kotani, Yoichi Maekawa, Satoshi Matsuda
2. 発表標題 T-lineage specific Arf-deficient mice are susceptible to Leishmania major infection
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sukhonthip Khueangchiangkhwang, Zhiliang Wu, Yoichi Maekawa
2. 発表標題 Modulation of host immune response by extracellular vesicles from parasitic nematode, Trichinella spiralis
3. 学会等名 第14回 寄生虫感染免疫研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Wu Zhiliang, Nagano Isaoa, Khueangchiangkhwang Sukhonthipa, Maekawa Yoichi	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 81
3. 書名 Trichinella and Trichinellosis	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------