

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22522

研究課題名(和文)ストレス免疫学の創生

研究課題名(英文)Establishment of stress immunology

研究代表者

村上 正晃(MURAKAMI, Masaaki)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：00250514

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)：申請者は近年、ミエリンに対する自己反応性CD4+T細胞の血中存在下でストレス特異的な神経回路が活性化すると、脳内の特定血管に微小炎症が発生し、上部消化管炎症や突然死を誘導することを発見した。本研究ではまず心理面にも影響を及ぼす光刺激に着目した。強い光刺激では交感神経の脱感作作用にて網膜におけるゲートウェイ反射が抑制され、炎症病態が抑制された。さらに、ストレスが病態を悪化させる例である腎移植後拒絶反応に着目し、腎尿管上皮細胞から炎症に関わるSTY17とORM1が尿中に多く分泌されることを明らかにし、高感度な炎症マーカーとして同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

負の情動はストレスとなり、臓器機能を乱し、病気を誘発・悪化させる。逆に、正の情動は、ストレスを抑制して臓器機能の向上を引き出す。本研究ではこの日常的なストレスによる臓器機能の制御メカニズムの一端を明らかにした。特に、明るい光によりぶどう膜炎を抑制する機構は、ゲートウェイ反射の抑制系の機構であり、血液関門によって隔絶されている中枢神経や網膜といった臓器における炎症病態を環境刺激によって抑制可能であることを示す。尿中ストレスマーカーは包括的なストレス関連疾患の把握につながる。こうしたストレス免疫学の創生はストレス関連疾患の予防・治療につながるという点で社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：We have previously discovered the “stress gateway reflex,” a neuro-immune interaction that lead to fatal gastrointestinal and heart failure by induction of brain micro-inflammation triggered by chronic stress. To find other stress related inflammatory disorders, we firstly focused on light stimulation. Exposure to photopic light down-regulated the ocular inflammation by suppressing beaching of the blood-retina barrier. This discovery also indicates that gateway reflex can be suppressed by environmental stimuli. Moreover, we focused on chronic kidney allograft rejection, a kind of stress associated disease. Pathological analysis revealed that patients’ tubular cells expressed STY17 and ORM1 as well as inflammatory transcription factors. Since these molecules were highly detected in urine, these molecules can be non-invasive candidate biomarkers for stress-mediated inflammatory diseases and will contribute to establish stress immunology in the future.

研究分野：環境刺激を引き金とした、特異的神経回路活性化を介した炎症病態誘導メカニズムの解明

キーワード：ストレスゲートウェイ反射 IL-6アンブ 神経回路 炎症 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

不安などの負の情動はストレスとなり、臓器機能を乱し、病気を誘発もしくは病状を悪化させることがある。逆に、喜び、楽しみなどの正の情動は、ストレスを抑制して臓器機能の向上を引き出すことがある。近年、申請者は、特異的な神経回路の活性化により局所炎症が誘導される「ゲートウェイ反射」を発見し、血管を介した神経系と免疫系の機能連関と免疫病の発生病機に新たなページを加えた。私たちは加齢とともに体内に自己反応性 T 細胞を多く保有するようになる。自己反応性 T 細胞はストレス状況下において「ストレスゲートウェイ反射」により体内で微小炎症を誘導することがわかっており、そのメカニズムには血管内皮細胞での炎症増幅機構である IL-6 アンブが関わる^{1,2}。

ミエリン関連抗原である MOG 由来のペプチドを認識する T 細胞を移入したマウスに睡眠不足や居心地の悪い環境といった慢性的なストレスを与えると突然死を起こす。このマウスでは、PVN から投射されるノルアドレナジックな神経回路により、第 3 脳室、歯状回、視床に囲まれた特定の左右 2 箇所の血管部位の内皮細胞における NF- κ B 経路と STAT3 経路が同時に活性化され、IL-6 アンブが活性化していた。ノルアドレナジックな神経回路は当該血管部位にてノルアドレナリンを産生し、内皮細胞の NF- κ B 活性化を増強する。それにより IL-6 アンブの活性化が増強され、CCL5 を含む多くの NF- κ B 標的ケモカイン、IL-6、増殖因子などの発現を上昇させる。こうして生じる当該特定血管周囲の微小炎症により NF- κ B を刺激する炎症誘導因子である ATP が分泌される。この血管周囲に産生された ATP は、神経伝達物質としても作用し、通常は活性化していない視床下部背内側核/前核に投射する神経回路を強く活性化する。その結果、最終的に、迷走神経核 (DMX) の上部消化管に分布する迷走神経細胞の過剰な活性化を介して、アセチルコリン依存性に胃や十二指腸の炎症が生じ、最終的には心臓の機能不全から突然死を伴う病態が誘導されることが明らかになった²。

この「ストレスゲートウェイ反射」をヒトのストレス性疾患に一般化し、「ストレス免疫学」を創生することで最終的にストレス関連性疾患を予防・治療する、これまでにない革新的な方法論を具体化する。

2. 研究の目的

「ストレスとは何か？」との根本的な疑問を免疫学的に細胞・分子レベルで理解し、「ストレス免疫学」領域を創生することを目指す。具体的には以下の 2 つを目的として研究を行った。① ストレスを自己免疫疾患や神経変性疾患等の様々な疾患モデルに適用し、病態および神経回路活動状態の変化を包括的に解析する、② ストレスに対する分子レベルのバイオマーカーの開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 光刺激がぶどう膜炎に与える影響に関する探索

光刺激は心的影響を与えるため、ストレス関連環境刺激として光に着目した。C57BL/6 マウスに光受容体間レチノイド結合タンパク質 (IRBP) に対する自己反応性 T 細胞 (IRBP-T) を移入したぶどう膜炎モデルマウスを作出した。このマウスを明るい光と薄暗い光の飼育条件で飼育し、ぶどう膜炎の発症を比較し、その病態の違いを生み出すメカニズムを調べた。

(2) ストレス性の微小炎症の病態マーカーの探索

腎臓移植時に拒絶反応を起こしている患者ではうつ症状を呈することがあることから、ストレスが関わる病態であると考えられている。拒絶反応を起こしている患者の尿を調べることで、ストレス性の微小炎症の病態マーカーの候補となる分子を調べた。

また、IL-6 アンブを制御する分子を同定し、その活性化機構を調べた。

4. 研究成果

(1) IRBP-T を移入したマウスを明るい光で飼育すると薄暗い光で飼育したときと比較して病態が減弱していた。その病態を分子レベルで解析すると、明るい光が IL-6 アンブ機構の活性化を抑制し、病態が抑制されることが明らかになった。その詳細なメカニズムとしては、以下の通りである (図 1)³。

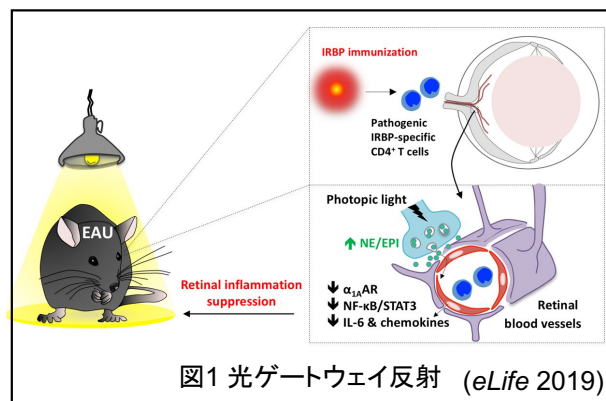


図1 光ゲートウェイ反射 (eLife 2019)

- ① 光刺激により活性化した網膜神経細胞がノルアドレナリンを産生する。
- ② 網膜血管内皮細胞は $\alpha 1$ ノルアドレナリン受容体を発現しており、ノルアドレナリンを受容すると IL-6 アンブ機構が活性化する。
- ③ 活性化した IL-6 アンブによりケモカインや増殖因子が過剰産生されると炎症細胞が集簇し、微小炎症が誘導される。
- ④ 同時にゲートウェイ反射の働きにより血液網膜関門が開放され、炎症病態が発生する。
- ⑤ このとき、光刺激が強いと網膜神経細胞の活性化が過剰になり、ノルアドレナリンの過剰産生が起こる。その結果負のフィードバックが働き、血管内皮細胞の $\alpha 1$ ノルアドレナリン受容体の発現が減少し、IL-6 アンブの活性化が誘導されず、炎症病態が減弱する(図2)。

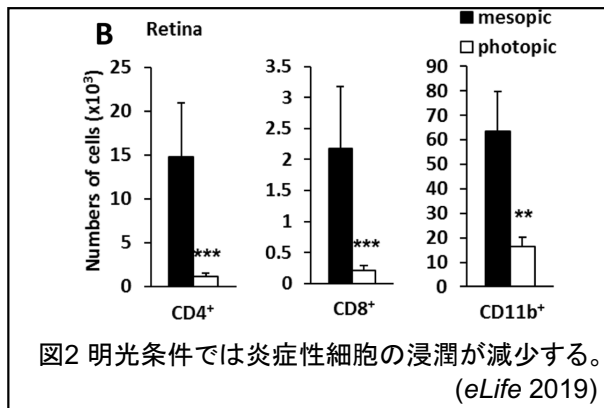


図2 明光条件では炎症性細胞の浸潤が減少する。
(eLife 2019)

(2)まず IL-6 アンブの活性化に関わる分子のうち腎臓で高発現している SYT17 に着目し、その発現を調べた。腎移植時に拒絶反応を起こした患者(CAAMR)では腎尿細管細胞でSYT17の発現が亢進しており、同細胞ではIL-6アンブも活性化していた⁴。患者尿中のエクソソーム分画を調べると、健常人と比較して有意に多くSYT17が含まれていることもわかった(図3)⁴。ORM1は炎症関連分子であり、慢性腎臓病患者の尿中に多く排泄されることが知られている分子である。このことからSYT17に加え、ORM1もCAAMRやストレス微小炎症に関与する可能性が考えられた。ORM1の尿中濃度を測定するとCAAMRではその他の腎疾患患者および健常人と比較して有意に高値を示した⁵。ORM1は患者の腎尿細管細胞で発現しており、同細胞ではIL-6アンブが亢進していた。腎尿細管細胞株を用いたさらなる検討の結果、腎尿細管細胞ではIL-6アンブの活性化によりORM1が産生されること(図4)、ORM1自体もIL-6アンブを増強する作用があることが明らかになり、ORM1はIL-6アンブを制御し病態形成に働くことが示された⁵。以上の結果から、尿中エクソソーム分画に含まれるSYT17とORM1はCAAMRの非侵襲的マーカーとなる可能性、さらにはIL-6アンブの関与するストレス微小炎症の非侵襲的測定の確立の可能性が示され、ストレス免疫学創生のための有用なツールとなりうることを示された。

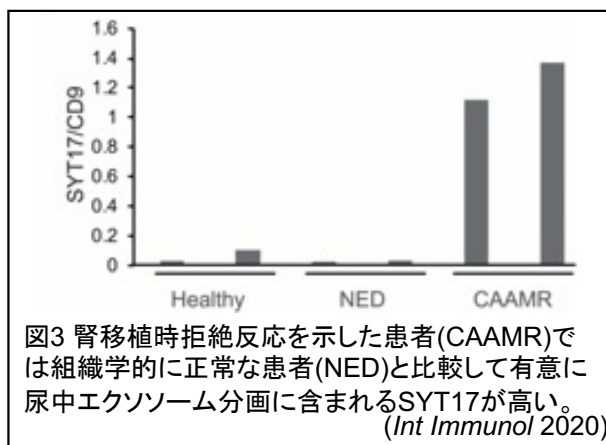


図3 腎移植時拒絶反応を示した患者(CAAMR)では組織学的に正常な患者(NED)と比較して有意に尿中エクソソーム分画に含まれるSYT17が高い。
(Int Immunol 2020)

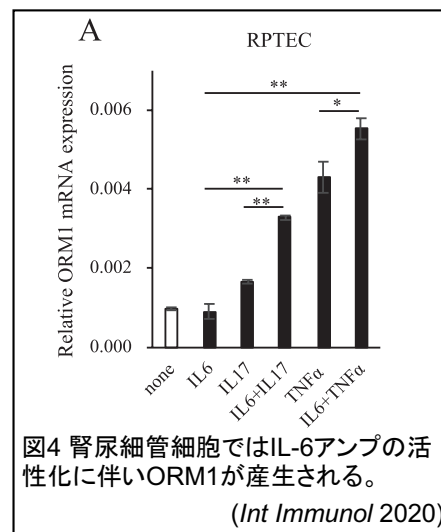


図4 腎尿細管細胞ではIL-6アンブの活性化に伴いORM1が産生される。
(Int Immunol 2020)

<引用文献>

- 1 Atsumi, T. *et al.* Inflammation amplifier, a new paradigm in cancer biology. *Cancer Res* **74**, 8-14, doi:10.1158/0008-5472.Can-13-2322 (2014).
- 2 Arima, Y. *et al.* Brain micro-inflammation at specific vessels dysregulates organ-homeostasis via the activation of a new neural circuit. *Elife* **6**, doi:10.7554/eLife.25517 (2017).
- 3 Stofkova, A. *et al.* Photopic light-mediated down-regulation of local $\alpha(1A)$ -adrenergic signaling protects blood-retina barrier in experimental autoimmune uveoretinitis. *Sci Rep* **9**, 2353, doi:10.1038/s41598-019-38895-y (2019).
- 4 Takada, Y. *et al.* Increased urinary exosomal SYT17 levels in chronic active antibody-mediated rejection after kidney transplantation via the IL-6 amplifier. *Int Immunol* **32**, 653-662, doi:10.1093/intimm/dxaa032 (2020).
- 5 Higuchi, H. *et al.* Orosomucoid 1 is involved in the development of chronic allograft rejection after kidney transplantation. *Int Immunol* **32**, 335-346, doi:10.1093/intimm/dxaa003 (2020).

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 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ota, M., Y. Tanaka, I. Nakagawa, J. J. Jiang, Y. Arima, D. Kamimura, T. Onodera, N. Iwasaki and M. Murakami	4. 巻 72
2. 論文標題 Role of Chondrocytes in the Development of Rheumatoid Arthritis Via Transmembrane Protein 147-Mediated NF - B Activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 931-942
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/art.41182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Tanaka, H., Y. Arima, D. Kamimura, Y. Tanaka, N. Takahashi, T. Uehata, K. Maeda, T. Satoh, M. Murakami, and S. Akira.	4. 巻 216
2. 論文標題 Phosphorylation-dependent Regnase-1 release from endoplasmic reticulum is critical in IL-17 response.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 1431-1449
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20181078	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 該当する
1. 著者名 Murakami, M., D. Kamimura and T. Hirano.	4. 巻 50
2. 論文標題 Pleiotropy and Specificity: Insights from the Interleukin 6 Family of Cytokines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunity	6. 最初と最後の頁 259-267
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.immuni.2019.03.027	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 Stofkova, A., D. Kamimura, T. Ohki, M. Ota, Y. Arima, and M. Murakami.	4. 巻 9
2. 論文標題 Photopic light-mediated down-regulation of local 1A-adrenergic signaling protects blood-retina barrier in experimental autoimmune uveoretinitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 2353
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-38895-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Higuchi Haruka, Kamimura Daisuke, Jiang Jing-Jing, Atsumi Toru, Iwami Daiki, Hotta Kiyohiko, Harada Hiroshi, Takada Yusuke, Kanno-Okada Hiromi, Hatanaka Kanako C, Tanaka Yuki, Shinohara Nobuo, Murakami Masaaki	4. 巻 32
2. 論文標題 Corrigendum: Orosomucoid 1 is involved in the development of chronic allograft rejection after kidney transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 493 ~ 493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa024	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 Takada Yusuke, Kamimura Daisuke, Jiang Jing-Jing, Higuchi Haruka, Iwami Daiki, Hotta Kiyohiko, Tanaka Yuki, Ota Mitsutoshi, Higuchi Madoka, Nishio Saori, Atsumi Tatsuya, Shinohara Nobuo, Matsuno Yoshihiro, Tsuji Takahiro, Tanabe Tatsu, Sasaki Hajime, Iwahara Naoya, Murakami Masaaki	4. 巻 32
2. 論文標題 Increased urinary exosomal SYT17 levels in chronic active antibody-mediated rejection after kidney transplantation via the IL-6 amplifier	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 653 ~ 662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa032	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10件（うち招待講演 10件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Masaaki Murakami
2. 発表標題 Gateway reflex, a nuro-immune interaction related to CNS-inflammation
3. 学会等名 RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 201 「Genetic Craft Immunity and Biology Networks (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 特異的な神経回路の活性化による免疫反応の制御
3. 学会等名 第62回日本手外科学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 IL-6アンブとゲートウェイ反射による炎症性疾患の制御
3. 学会等名 第66回日本実験動物学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 IL-6による免疫制御：炎症アンブとゲートウェイ反射
3. 学会等名 第40回日本炎症・再生学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 IL-6アンブとゲートウェイ反射による炎症の誘導機構
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 特異的な神経回路活性化による自己免疫疾患の制御
3. 学会等名 生理学研究所情動研究会「生体システム統合機構としての情動」（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 IL-6アンプとゲートウェイ反射による組織特異的な炎症性疾患の誘導
3. 学会等名 第49回日本免疫学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 IL-6アンプとゲートウェイ反射と心臓の機能
3. 学会等名 第3回Bench to Beside Cardiovascular Research Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 ゲートウェイ反射による炎症性疾患の制御
3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上正晃
2. 発表標題 ゲートウェイ反射による組織特異的な炎症生疾患の制御-心機能障害との関連も-
3. 学会等名 学術ウェブセミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計9件

1. 著者名 長谷部理絵、上村大輔、村上正晃	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 8
3. 書名 臨床免疫・アレルギー科	

1. 著者名 上村大輔、村上正晃	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 8
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 上村大輔、村上正晃	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 5
3. 書名 実験医学（運動による炎症状態の変化）	

1. 著者名 上村大輔、村上正晃	4. 発行年 2019年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 6
3. 書名 炎症と免疫（IL-6受容体の構造と機能）	

1. 著者名 内田萌菜、上村大輔、村上正晃	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 10
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 内田萌菜、村上正晃	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 8
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 村尾尚規、藤田宗純、林利彦、清野研一郎、村上正晃、山本有平	4. 発行年 2020年
2. 出版社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 3
3. 書名 癬痕・ケロイド治療ジャーナル	

1. 著者名 内田萌菜、松山詩菜、村上正晃	4. 発行年 2020年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 8
3. 書名 臨床免疫・アレルギー科	

1. 著者名 北條慎太郎、内田萌菜、村上薫、松山詩菜、田中くみ子、村上正晃	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 8
3. 書名 実験医学増刊号	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 移植腎慢性拒絶反応及び慢性腎臓病の発症又は進行の可能性を評価する方法、検査キット及び医薬組成物	発明者 村上正晃、上村大輔、高田祐輔	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-015303	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ストレス負荷が関与する疾患を予防及び/又は治療するための医薬	発明者 村上正晃、上村大輔	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、JP2019/34497	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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