

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32620

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K24002

研究課題名(和文) SLEにおけるSTING経路を介したIFN 過剰産生機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of IFN alpha overproduction through the STING pathway in SLE

研究代表者

村山 豪 (Murayama, Goh)

順天堂大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：80850908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE)病態において重要な役割を果たすサイトカインとしてインターフェロン(IFN)が注目されているが、その産生機序や産生源については不明な点が多い。我々はCyclic GMP-AMP synthase (cGAS)-stimulator of IFN genes (STING)経路を介して単球からIFNが産生されることを見出した。SLE病態形成に重要な単球サブセットを同定するため、SLE単球をRNAシーケンス(RNA-seq)を行い、細胞老化に関わるGATA4遺伝子の発現が亢進していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでSLEにおいて、IFNが病態に重要であることは示されてきたが、その産生源や産生機序についてはまだ不明な点が多い。我々はこれまでIFN産生細胞として注目されてこなかった単球が、細胞内核酸受容体経路であるcGAS-STING経路刺激によりIFNを産生することを明らかにした。健常者単球にはIFN産生能を有する細胞は僅かしか存在せず、IFN産生単球はSLE病態と深く関わっている可能性がある。IFN産生を行う単球の特徴や変化を同定することで、SLEの新規治療法や予防法の確立へ発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Interferon (IFN) has been the most important cytokine in the pathology of systemic lupus erythematosus (SLE), but it remains unclear how IFN is produced. We found that monocytes produce IFN through the Cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) -stimulator of IFN genes (STING) pathway. In order to identify monocyte subsets important for SLE pathogenesis, we performed RNA sequencing (RNA-seq) for SLE monocytes and found that the expression of the GATA4 gene involved in cellular senescence was enhanced.

研究分野：膠原病

キーワード：全身性エリテマトーデス cGAS STING 単球 インターフェロン RNAシーケンス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

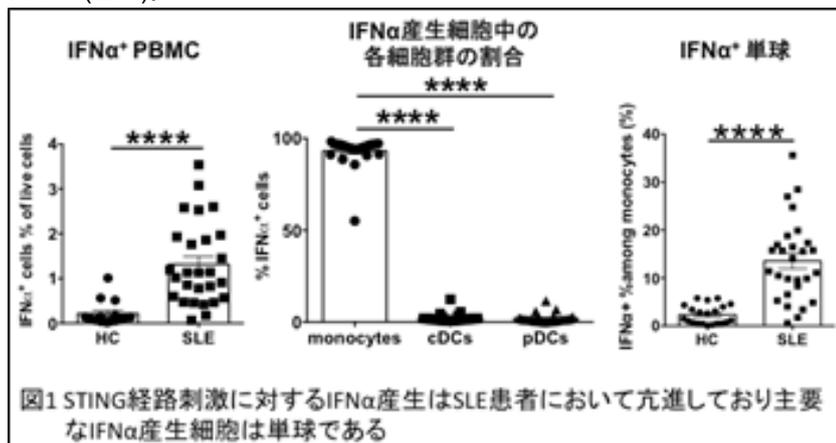
### 1. 研究開始当初の背景

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus : SLE) SLE で過剰産生される IFN $\alpha$  は自己抗体産生や炎症反応の促進など SLE 病態を形成する上で重要な役割を果たし、またその IFN $\alpha$  経路の制御が病態を改善させる可能性が示唆されてきた。近年 IFN $\alpha$  産生に重要な経路として、細胞質核酸受容体である **Cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)** とその下流のシグナル伝達分子である **stimulator of IFN genes (STING)**を介する経路が知られている。STING の **gain-of-function** 変異により、高 IFN $\alpha$  血症を呈し SLE に類似した病態を呈することが報告され、SLE においてもその関与が注目されている。申請者は cGAS-STING 経路刺激に対する PBMC の IFN $\alpha$  産生能は健常コントロール(HC)と比較して SLE 患者で亢進しており、IFN $\alpha$  産生細胞の大半を単球が占めることを見出した (図 1)。

plasmacytoid

dendritic cells (pDC)

は主要な IFN $\alpha$  産生細胞として注目されてきたが、その末梢血単核球(peripheral blood mononuclear cells: PBMC)で占める割合は 0.2%である。一方で、単球は PBMC の 10%と 50 倍も高い頻度で存在する大きな細胞群であることから SLE 病態に重要な役割を担うことが推察される。



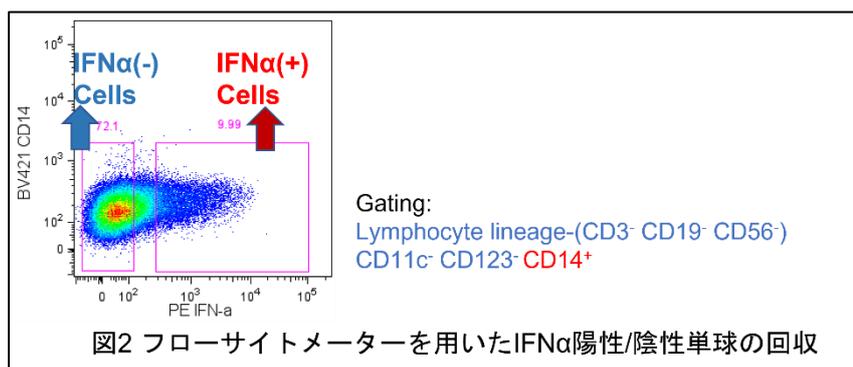
以上のことから、pDC だけでなく単球など細胞の種類ごとに IFN $\alpha$  産生能を調べ、SLE 病態との関連性を明らかにすることは重要な課題と考えられる。SLE 病態に関わる IFN $\alpha$  産生細胞や細胞内核酸受容体経路の同定は新規治療法や予防法の確立へ発展が期待される。

### 2. 研究の目的

これまで SLE において、IFN $\alpha$  が病態に重要であることは示されてきたが、その産生源や産生機序についてはまだ不明な点が多い。我々は、先行研究で SLE において TLR7 経路を介した pDC からの IFN $\alpha$  産生が亢進していることを初めて報告したが、さらにこれまで IFN $\alpha$  産生細胞としては注目されてこなかった単球においても cGAS-STING 経路刺激により IFN $\alpha$  を産生することを明らかにした。単球は末梢血中に多く存在していることから、IFN $\alpha$  産生を介した SLE 病態形成に強く関与している可能性が高い。このため、SLE 単球における特性を捉えることが SLE 新規治療構築に有効であると考えた。特に IFN $\alpha$  産生を行う単球を解析することで、SLE 単球における IFN $\alpha$  産生を制御できる可能性がある。そこで本研究計画では、STING 刺激によって IFN $\alpha$  産生または非産生単球について RNA シークエンス(RNA-seq)を行い、SLE 単球における mRNA 発現変化を比較した。

### 3. 研究の方法

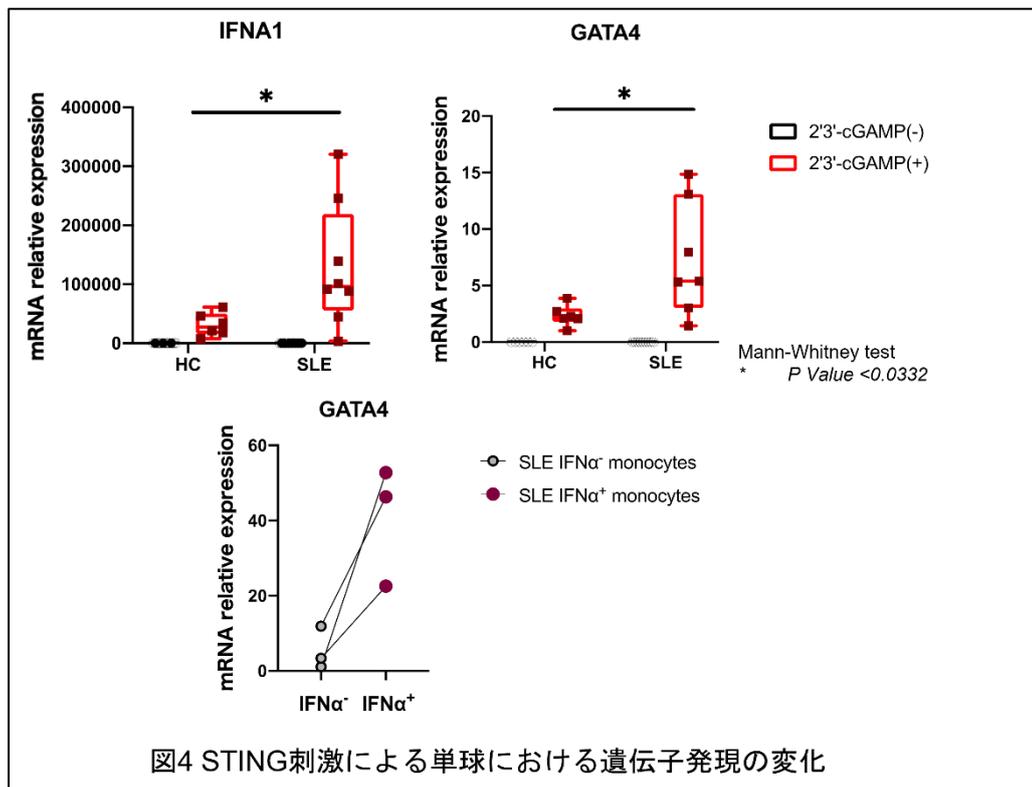
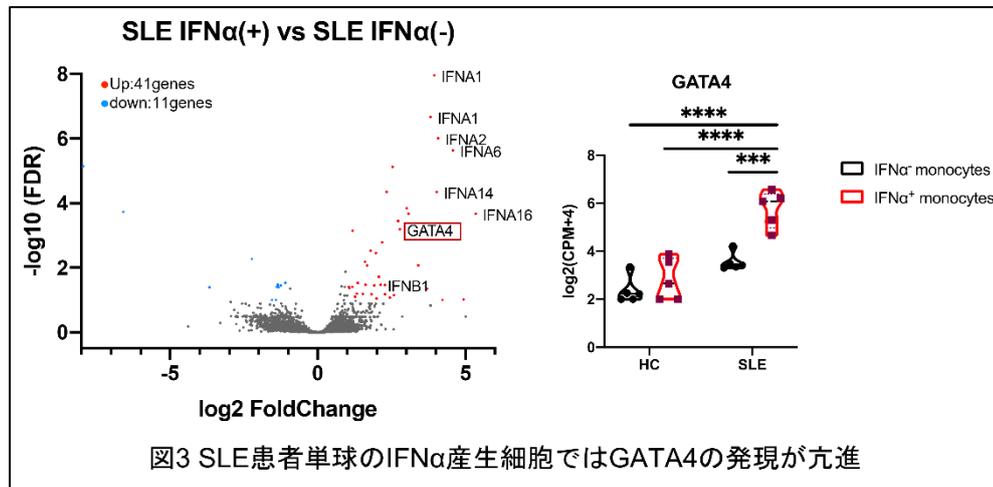
SLE 病態に重要な役割を担う IFN $\alpha$  産生細胞を下記アプローチにより同定する。STING アゴニストである 2'3'-cGAMP で PBMC を刺激し、フローサイトメーターを用いて IFN $\alpha$  産生単球を同定、IFN $\alpha$  陽性単球または IFN $\alpha$  陰性単球に単離し、個々に回収する。SLE 患者と HC で比較し、RNA シークエンシング(RNA-seq)を用いた IFN $\alpha$  産生細胞の解析を行う (図 2)。



#### 4. 研究成果

・GATA4 は STING 刺激で誘導され SLE で発現が亢進した

STING アゴニストである 2'3'-cGAMP で SLE/HC の単球を刺激し、フローサイトメーターを用いて IFN $\alpha$  陽性単球と IFN $\alpha$  陰性単球を単離・回収し、RNA-seq で解析した。その結果、SLE/HC ともに STING 刺激で IFNA1、GATA 4 の発現亢進が誘導され、HC と比較して SLE 患者で有意に発現亢進が見られた。また SLE 単球においても、IFN $\alpha$  陽性単球で有意に GATA4 の発現亢進が見られた (図 3, 4)。



GATA4 は酸化ストレスなどにより、損傷 DNA が蓄積した際に細胞が増殖を停止する細胞老化 (senescence) で発現が誘導される。また、損傷 DNA が cGAS などの核酸受容体に感知されると炎症性サイトカイン産生が亢進する SASP (senescence-associated secretory phenotype) が生じることから、SASP によって IFN $\alpha$  産生が誘導されている可能性が考慮された。

以上の結果から、SASP による SLE 単球における IFN $\alpha$  産生の証明など SLE 病態形成メカニズムをさらに解明すべく、2020 年度若手研究へと引き継いだ。

#### <引用文献>

1. Murayama G, et al. Inhibition of mTOR suppresses IFN $\alpha$  production and the STING pathway in monocytes from systemic lupus erythematosus patients. Rheumatology (Oxford). 2020 Oct 1;59(10):2992-3002.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Goh Murayama	4. 巻 -
2. 論文標題 Inhibition of mTOR Suppresses IFN Production and the STING Pathway in Monocytes From Systemic Lupus Erythematosus Patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keaa060	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Goh Murayama
2. 発表標題 Enhanced IFN a Production and STING Pathway in Monocytes in Systemic Lupus Erythematosus Is Suppressed by the Inhibition of mTOR Activation
3. 学会等名 the 2019 ACR/ARP Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Goh Murayama
2. 発表標題 The inhibition of mTOR activation suppress IFN alpha production and STING pathway in monocytes in systemic lupus erythematosus
3. 学会等名 第48回日本免疫学会
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------