

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：16201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23058

研究課題名(和文) Spi-Bと標的とした形質細胞様樹状細胞によるインターフェロン産生抑制薬剤の開発

研究課題名(英文) Development of Spi-B induced interferon production inhibitor for plasmacytoid dendritic cells

研究代表者

宮崎 亮 (Miyazaki, Ryo)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10882433

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)：樹状細胞サブセットの一つである、形質細胞様樹状細胞(pDC)は、その活性化により多量のⅠ型インターフェロン(IFN)を産生する機能的な特徴がある。このpDCが産生するⅠ型IFNは、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、およびSjogren症候群などの自己免疫疾患の悪化に関与すると考えられている。申請者は、Ewing肉腫の治療薬として開発中の低分子化合物が、マウスpDCのⅠ型IFN産生を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

pDCは病原センサーとして核酸を認識するToll-like receptor 7 (TLR7)およびTLR9を発現しており、核酸を認識すると多量のⅠ型インターフェロン(IFN)を産生する特徴を持つ。pDCが産生するⅠ型IFNは全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、およびSjogren症候群(SS)といった自己免疫疾患に関与すると考えられている。本研究によってpDCのⅠ型IFN産生を抑制することができれば、新しい作用機序の薬剤の開発に繋がると考える。

研究成果の概要(英文)：Plasmacytoid dendritic cells (pDC), one of the dendritic cell subsets, have the functional feature of producing large amounts of type I interferon (IFN) upon their activation. Type I IFN produced by pDC is thought to be involved in exacerbation of autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE), psoriasis, and Sjogren syndrome. We revealed that a small molecule compound under development for the treatment of Ewing's sarcoma suppresses type I IFN production in murine pDC.

研究分野：口腔外科学

キーワード：形質細胞様樹状細胞 インターフェロン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

樹状細胞は、その表面マーカーによって形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cell; pDC)と通常樹状細胞(conventional dendritic cell; cDC)に分けられる。pDCは病原センサーとして核酸を認識するToll-like receptor 7 (TLR7)およびTLR9を発現しており、核酸を認識すると多量のⅠ型インターフェロン(IFN)を産生する特徴を持つ。pDCが産生するⅠ型IFNは全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、およびSjögren症候群(SS)といった自己免疫疾患に関与すると考えられている。

### 2. 研究の目的

申請者らは、pDCのⅠ型IFN産生メカニズムを解明する研究をこれまで行ってきた。pDCはToll様受容体(TLR7, TLR9)が核酸を認識し、その情報が細胞内シグナル伝達分子(MyD88, IKK など)を介し、転写因子(IRF-7, NFATC3)の活性化を誘導することで、Ⅰ型IFN遺伝子の転写が始まる。申請者の共同研究者は、pDCに強く発現するEtsファミリー転写因子Spi-Bが、IRF-7によるⅠ型IFN遺伝子の転写活性化を、相乗的に増強することを明らかにした。申請者は、Spi-Bによる転写活性の増強メカニズムを詳細に解析し、Spi-Bと転写コアクチベーターp300の結合が、転写活性の増強作用に関わることを明らかにした[Miyazaki et al. BBRC 2020]。これまでの結果から申請者は、Ⅰ型IFN遺伝子のプロモーター領域に、IRF-7、Spi-B、およびp300で構成される三分子が同時に集積することが、pDCで見られるⅠ型IFN遺伝子の転写活性化に必須であると考えている。

近年、新規の低分子化合物YK-4-279が、EWS-FLI1とRNA helicase Aの結合を阻害することで、Ewing肉腫の増殖を抑制すると報告された。さらに、YK-4-279が活性化B細胞様びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(ABC-DLBCL)においてSpi-BとRNA helicase Aの結合を抑制し、腫瘍の増殖を抑制することも報告された。

そのため申請者は、YK-4-279が、Spi-BによるⅠ型IFN遺伝子プロモーターの活性化を阻害する可能性を考えた。これら低分子化合物が、pDCのⅠ型IFN産生を抑制することができれば、ステロイド薬とは異なる機序で作用する、新しい薬剤の開発に繋がると考える。

pDCのⅠ型IFN産生誘導メカニズムは、各種ロックアウトマウスや、特異的阻害剤を用いる研究により明らかにされてきた。機能分子として、Toll様受容体、細胞内シグナル伝達分子、プロテアーゼや転写因子などが、これまでに報告されている。pDCに発現するSpi-Bに着目し、YK-4-279など低分子化合物を用いて、pDCの機能を解析する研究は手付かずのままである。

実際の疾患において、SLE患者ではpDCの慢性的な活性化がIFN- $\alpha$ の産生過多を引き起こし、病態の悪化を引き起こすことが分かっている。

本研究により、低分子化合物によるpDCの機能制御メカニズムを明らかにする事で、新たな価値が創造できると考える。低分子化合物によりpDCのⅠ型IFN産生を抑制することができれば、自己免疫疾患に対する新しい作用機序の薬剤の開発に繋がると考える。

### 3. 研究の方法

C57BL/6Nマウス骨髓細胞を採取し、Flt-3ligandを含む培地で培養することで骨髓由来樹状細胞を分化誘導した。低分子化合物存在下でTLR7、およびTLR9刺激した時のIFN- $\alpha$ 、IL-12産生をELISAで調べる。TLR7刺激として高分子のpoly(U)、イミダゾキノリンの一種であるR848を使用し、TLR9刺激としてCpG DNA(ODN1668およびD19)を用いて、刺激の種類によって反応が異なるかも検討する。

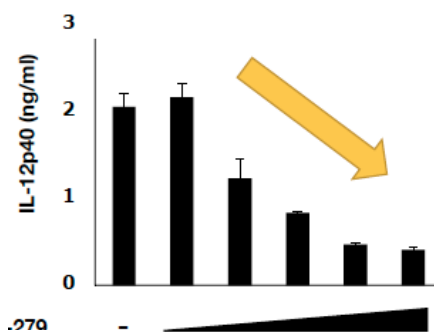
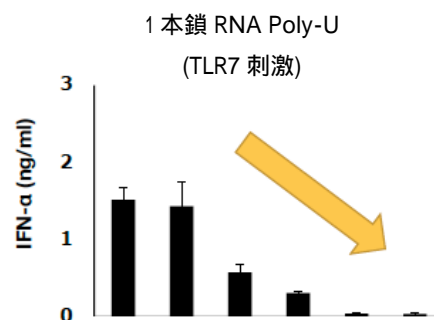
### 4. 研究成果

A) TLR7刺激(1本鎖RNA poly(U)およびR848)によるサイトカイン産生

イミダゾキノリンの一種であるR848で刺激した場合、IFN- $\alpha$ およびIL-12p40産生は、YK-4-279の存在下でも低下しなかった。一方、高分子量のpoly(U)で刺激した場合、IFN- $\alpha$ およびIL-12p40産生は被験物の濃度に依存して低下した。(右図)

B) TLR9刺激(CpG DNA: ODN1668およびD19)によるサイトカイン産生

ODN1668あるいはD19刺激のどちらの場合も、YK-4-279の濃度に依存してIFN- $\alpha$ 産生が低下した。一方、



IL-12p40産生の顕著な低下は

見られなかった。

本研究により、YK-4-279 および TK216 は、poly(U)刺激および CpG DNA 刺激による pDC の IFN- $\beta$  産生を、濃度依存的に抑える効果を持つ事が明らかとなった。

この実験系で IFN- $\beta$  を産生するのは pDC だけである事から、低分子化合物が pDC における Spi-B の機能を抑制すると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------