

疾患モデルマウスを用いた自己免疫性疾患の病態解明と治療法開発

松本佳則

岡山大学学術研究院医歯薬学域 腎・免疫・内分泌代謝内科学

【研究の背景】

関節リウマチは、自己または外来抗原に対する異常な免疫応答により活性化された炎症細胞からサイトカインが異常産生されることで生じるが、その機序は不明である。

我々は基質蛋白をADPリボシル化して分解誘導する酵素“Tankyrase”をマクロファージでノックアウト(KO)したマウスを製し、同マウスではサイトカイン異常産生、全身炎症が起こり、自然免疫機構の制御不全を呈することを見出した。その原因としてE3-ubiquitin ligaseであるRNF146との協調によりTankyrase依存的に分解されるチロシンキナーゼのアダプター蛋白“3BP2”の代謝障害、発現量増加によるSRC/Sykの活性化から、TLRのチロシンリン酸化が起こり、シグナル異常活性化からサイトカイン産生が亢進する炎症発生の新たな制御機構を解明した(Matsumoto Y et al. J Clin Invest, 2022)。

そこで我々は、自然免疫活性化によるサイトカイン産生が病態形成に関与する関節リウマチの病因にTankyraseや3BP2が関わるのではないかと考えた。

【目 的】

本研究は多施設国際共同研究として、チロシンリン酸化という新たな概念で3BP2が自然免疫活性化を介して関節リウマチの病態形成に関わる機序を解明し、関節リウマチ治療における3BP2標的の意義を明らかにする。更に“3BP2を標的とした関節リウマチの新規治療薬開発”を目指す。

【方 法】

野生型及びマクロファージ分画のTankyrase KOマウスに血清誘導性関節炎を惹起し、Tankyrase KOマウスでは関節炎が悪化することを臨床的・組織学的に確認する。

次に関節炎を誘導した野生型及びマクロファージ分画のTankyrase KOマウス関節滑膜を用いてフローサイトメトリーを行い、滑膜に浸潤する各免疫細胞Profileを明らかにする。本検討にて、関節リウマチの病態形成に関与する3BP2依存免疫細胞活性化の役割を明らかにする。

最後に3BP2が細胞内で増加した際の細胞機能変化をin vitroで明らかにする。

【結 果】

1) In vivoでの骨リモデリングの検討:

野生型及びマクロファージ分画のTankyrase KOマウスに血清誘導性関節炎を惹起し、臨床的・組織学的に関節炎を評価した。その結果、野生型に比してTankyrase KOマウスでは関節炎が著明に悪化し、滑膜組織の増生を認めた。

2) マウス滑膜サンプルを用いた検討:

関節炎を誘導した野生型及びマクロファージ分画のTankyrase KOマウス関節滑膜を用いてフローサイトメトリーを行い、Tankyrase KOマウスの滑膜ではマクロファージや好中球浸潤が増加している可能性が示唆された。

3) ヒトサンプルを用いた検討:

関節リウマチ患者から採取した PBMC を用いて FACS 解析を行い、関節リウマチ病態において 3BP2 が増加していることをヒトサンプルで証明した。

4) In vitro での機能解析:

マクロファージは組織球として組織に移行する他、骨吸収を担う破骨細胞にも分化する能力を持つ。我々は血清で誘導された関節炎マウスの骨髄より分離した野生型及び骨髄球系分画で 3BP2 が増加するマウス骨髄から分離したマクロファージをサイトカイン RANKL で刺激(10 ng/ml)し、破骨細胞への分化能や骨吸収能を検討したところ、3BP2 増加細胞では破骨細胞分化が亢進した。

【考 察】

マクロファージにおける 3BP2 発現増加はサイトカイン産生亢進、破骨細胞分化促進から、関節リウマチ病態を増悪させることが示唆された。本研究は関節リウマチの病態解明に寄与するとともに、チロシンキナーゼや TLR 活性化が病因となる全身性エリテマトーデス、自己炎症症候群、成人スチル病をはじめとする多くの難治性炎症疾患や、3BP2 研究の起源となったチェルビズムの治療薬開発にも応用可能と考えられた。現在関節リウマチ患者から採取した滑膜組織を用いて免疫組織化学(IHC)を行い、関節リウマチ病態において 3BP2 が増加していることを患者検体で確認している。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

現在 3BP2 阻害薬を開発中である。3BP2 阻害薬は、国内外に幅広く貢献する医療シーズを創出することが可能であり、未だ解決の困難な多くの難病治療に光をもたらしたい。最後に、本研究に多大なるご支援を頂いた先進医薬研究振興財団の皆様方に深謝致します。

【参考・引用文献】

Matsumoto Y (corresponding), Dimitriou ID, La Rose J, Lim M, Camilleri S, Law N, Adissu HA, Tong J, Moran MF, Chruscinski A, He F, Asano Y, Katsuyama T, Sada KE, Wada J, Rottapel R (corresponding). Tankyrase represses autoinflammation through the attenuation of TLR2 signaling. *The Journal of Clinical Investigation*. 132(7):e140869, 2022