

2007年4月30日

独立行政法人 理化学研究所

炎症反応を制御する新たなメカニズムを解明

- アレルギー・炎症性疾患の病態解明に新たな手掛かり -

転んだり、細菌に感染したりすると、私たちは、発熱、疼痛、腫れなどの症状に見まわられます。これらの炎症反応は、外敵に対する生体の防御機構の1つで、実は私たちの身を守ってくれているのです。異物が侵入すると、抗体を作り、白血球が細菌を殺すために活動しますが、その前に、全身に“敵が襲来！”との情報を伝えるため、局所が膨れ上がったり、熱が上昇するなどの炎症反応が起こります。

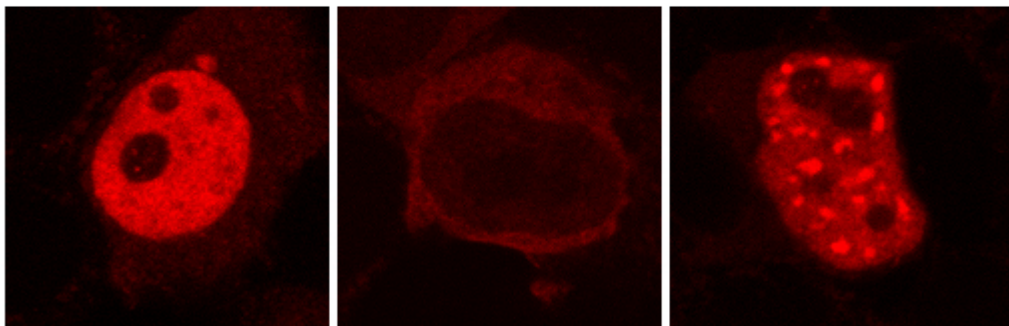
この一連の炎症反応が、怪我や病気から開放されても続いたり、何らかの原因で過剰に、しかも無制限に起こってしまうと、逆にアレルギー疾患や自己免疫疾患という厄介な病気を引き起こすこととなります。

ところが生体は、炎症反応を展開する一方で、制御するシステムも備え、絶妙なバランスをとっています。そしてこの調整メカニズムはナゾのままでした。

理研免疫・アレルギー科学総合研究センターの生体防御研究チームは、炎症反応を制御する必須の役割を担っている核内タンパク質が「PDLIM2」であることを発見しました。同時に、この物質が、炎症反応の主役である免疫物質に、荷札となる小さなタンパク質を結合させ、核内の特定の場所に運び込み分解させるという制御メカニズムを担っていることを新たに見出しました。過敏な炎症を伴うアレルギー疾患などの、免疫制御を活用した治療に役立つと期待されます。

NF- κ B

(1) コントロール (2) PDLIM2 (3) PDLIM2のLIMドメイン
欠損変異体



(図) PDLIM2によるNF- κ Bの分解と核内輸送

2007年4月30日
独立行政法人 理化学研究所

炎症反応を制御する新たなメカニズムを解明

-アレルギー・炎症性疾患の病態解明に新たな手掛かり-

◇ポイント◇

- ・免疫反応を正常に終息させる必須の分子は核内タンパク質「PDLIM2」
- ・炎症反応にかかわる転写因子を分解に導く新制御メカニズムが働く
- ・必須分子欠損マウスの炎症は2～3倍も増加、炎症過敏に

独立行政法人理化学研究所(野依良治理事長)は、「PDLIM2」(ピーディーリムツー)と呼ぶ核内タンパク質が、炎症反応の抑制に必須の役割を担っていることを明らかにしました。これは、理研免疫・アレルギー科学総合研究センター(谷口克センター長)生体防御研究チームの改正恒康チームリーダーおよび田中貴志研究員らによる成果です。

ウイルスや細菌が感染すると、生体は、炎症反応という一連の免疫反応を起こし、侵入した病原体と戦います。ところが、この炎症反応が、何らかの原因で過剰に、しかも無制限に起こってしまうと、アレルギー疾患や自己免疫疾患となることが知られています。このことから、生体は、免疫系を効率的に活性化するだけでなく、逆に抑制するシステムも備えており、炎症反応が過剰にならないように巧妙に調節していると考えられています。

生体に侵入した病原体を最初に認識するのは、樹状細胞^{*1}という免疫細胞です。樹状細胞は、病原体認識に引き続き、炎症性サイトカイン^{*2}などの炎症反応に必要な種々のタンパク質を産生することにより、炎症反応を発動します。これらのタンパク質の産生を誘導するためには、NF- κ Bという核内の転写因子^{*3}の活性化がきわめて重要であることが知られています。研究チームは、「PDLIM2」が、このNF- κ Bにユビキチンという小さなタンパク質分子を付加して、NF- κ Bを分解に導くことにより、炎症反応を終息させるように働くことを発見しました。さらに、ユビキチンが結合したNF- κ Bが、PDLIM2の作用で、核の中で隔離された特定の場所へ運ばれて、ここでプロテアソームというタンパク質分解酵素複合体により分解されるという新たな不活性化経路が存在することも明らかにしました。また、PDLIM2を欠損させた樹状細胞では、NF- κ Bの分解が妨げられ、炎症性サイトカインの産生量も2～3倍に増えていることもわかりました。

今回解明したPDLIM2による炎症反応の抑制機構は、アレルギー疾患や自己免疫疾患の治療を目的とした人為的な免疫制御法の開発に役立つことが期待できます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Nature Immunology*』オンライン版(4月29日付け:日本時間4月30日)に掲載されます。

1.背景

生体に病原体が侵入すると、樹状細胞は、細胞膜上のToll(トール)様受容体(TLR)

^{*4}というセンサーを使ってこれを認識します。そしてTLRから細胞内へシグナルを

伝え、最終的に転写因子NF-κBを活性化します。活性化したNF-κBは、炎症反応に必要な多くの遺伝子が順序よく働くように指令を出し、炎症反応の開始と進行に必要な不可欠な役割を果たしています。ところが、このNF-κBが過剰に活性化して免疫細胞が暴走するような状態が続くと、アレルギー疾患や炎症性疾患を発症することも報告されています。このため、正常な免疫応答を保ち病気の発症を防ぐには、NF-κBの活性をオンにするだけでなく、それを適切な時点でオフにするシステムが非常に重要なのです。

NF-κBを不活性化するシステムとして、NF-κBにユビキチンというタンパク質を付加（ユビキチン化）して、これを目印にしてNF-κBを分解する経路があることが最近報告されました。ユビキチンとは76個のアミノ酸からなる小さなタンパク質です。標的となるタンパク質に多数のユビキチン分子が鎖状に結合すると、標的タンパク質は、プロテアソームというタンパク質分解酵素により分解されて不活性化されます。この反応の特異性を生み出しているのがユビキチンリガーゼという分子です。ユビキチンリガーゼは、標的タンパク質を選別して結合し、これにユビキチン分子を連結するという役割を担っています。すなわち、個々の標的タンパク質には別々のユビキチンリガーゼが用意されていて、それぞれのユビキチンリガーゼが目的のタンパク質だけを分解する方向に導くと考えられています。しかしながら、活性化したNF-κBをユビキチン化するユビキチンリガーゼは、これまでその存在は示唆されていたものの、発見には至っていませんでした。また、ユビキチン分子が結合したNF-κBが、細胞内でどのような経路で分解に至るのかというメカニズムに関しても、はっきりとは解明されていませんでした。

2. 研究手法と成果

研究チームは、まず、TLRが認識する細菌の菌体成分であるLPS（リポ多糖）で細胞を刺激したときに、NF-κBがどのように不活性化されるのかを調べました。その結果、NF-κBがこれらの刺激に反応してユビキチン化されること、および、ユビキチン化されたNF-κBが核内の隔離された分画に運ばれて、そこでプロテアソームにより分解されるという新たな不活性化経路が存在することを明らかにしました。

次に、NF-κBにユビキチン分子を付加するユビキチンリガーゼを検索しました。PDLIM2（PDZ and LIM domain protein 2）は、田中らが2005年に発見した核内タンパク質で、LIMドメインという構造を持っています。このとき田中らは、LIMドメインをもつ分子がユビキチンリガーゼとして働くということを世界で最初に報告しました（SLIM^{*5} is a nuclear ubiquitin E3 ligase that negatively regulates STAT^{*6} signaling. *Immunity*, Volume 22, Issue6, Pages 729-736, 2005）。

PDLIM2は、T細胞^{*7}の転写因子STATに対するユビキチンリガーゼとしてT細胞の機能を抑制するように働いていましたが、樹状細胞における役割は不明でした。

そこで、培養細胞にNF-κBとPDLIM2を過剰に発現させ、PDLIM2がNF-κBのユビキチンリガーゼとして働くかどうかを調べました。その結果、PDLIM2が、NF-κBをユビキチン化するとともに、これを核内の隔離された場所に運んで、プロテアソームによる分解を促進するという2つの活性をもつユニークなユビキチンリガーゼであることを明らかにしました（図1と2）。

また、PDLIM2を欠損したマウスから採取した樹状細胞を、LPSで刺激したとき

の炎症性サイトカインの産生量を測定したところ、正常マウスに比べて2～3倍増加していました（図3）。さらに、PDLIM2欠損マウスの樹状細胞では、LPSで刺激してもNF-κBのユビキチン化がほとんど認められず、同時にNF-κBの分解が妨げられていました。また、PDLIM2欠損マウスにLPSを投与して敗血症を発症させたときの死亡率は、正常マウスよりも2倍高く、PDLIM2欠損マウスでは過剰な炎症反応が起こっていると考えられました。

以上の結果から、PDLIM2は、NF-κBをユビキチン化・分解して免疫反応を適切な時点で終息させることで、生体に過度の炎症反応が起こらないよう制御していることが明らかになりました。

3. 今後の期待

今回解明したPDLIM2による炎症反応の抑制機構は、アレルギー疾患や自己免疫疾患の治療を目的とした人為的な免疫制御法の標的となることが期待できます。

また、ユビキチン化によるタンパク質分解過程に異常が起こることによって、がんや神経変性疾患などさまざまな疾患が発症することが報告されています。自己免疫疾患やアレルギー疾患の中にも、同様の機序で発症するものもあると考えられ、本研究で解明されたPDLIM2による免疫反応の抑制経路が、このような疾患の病態解明の手がかりとなることが期待できます。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

免疫・アレルギー科学総合研究センター生体防御研究チーム

チームリーダー 改正 恒康 (かいしょう つねやす)

研究員 田中 貴志 (たなか たかし)

Tel : 045-503-7066 / Fax : 045-503-7064

横浜研究推進部 企画課

Tel : 045-503-9117 / Fax : 045-503-9113

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

<補足説明>

※1 樹状細胞

樹状突起をもつ白血球で、多くの亜集団がある。微生物の排除やTリンパ球に異物の情報を伝える細胞（抗原提示細胞）として働き、免疫反応の本質的な司令塔としての役割を担っている。

※2 炎症性サイトカイン

サイトカインとは、細胞同士の情報伝達に関わる様々な生理活性をもつタンパク質の総称。炎症性サイトカインとは、体内への病原体の侵入を受けて産生されるサイトカインで、生体防御に関与する他種類の細胞にはたらき、炎症反応を引き起こす。

※3 転写因子

特定の DNA 配列に結合して遺伝子の発現を制御するタンパク質。

※4 Toll(トール)様受容体(TLR)

Toll-Like Receptor。病原体由来のさまざまな成分の認識に関与する膜タンパク質群の総称。ヒトでは TLR1~TLR10 の 10 種類、マウスでは TLR1~TLR9、TLR11~13 (TLR10 は遺伝子として機能しない) の 12 種類が報告されており、それぞれの TLR が病原体特異的なそれぞれの成分を認識する。

※5 SLIM

STAT-interacting LIM protein。PDLIM2 の別名で、田中らが命名し報告したときの名前。同じ分子が複数のグループから異なった名前で報告されたので、後に国際命名として PDLIM2 に統一された。

※6 STAT

Signal transducers and activators of transcription。サイトカイン、増殖因子、ホルモンなどのシグナルを細胞膜上の受容体から核まで伝達する細胞内情報伝達分子。核に入った後は、転写因子として DNA に結合して遺伝子の発現を制御する。1 つの分子がこれら 2 つの機能を兼ね備えていることから、このような名前がついている。

※7 T 細胞

免疫制御の中心的役割を果たすリンパ球。胸腺 (Thymus) で形成されるため T 細胞と呼ぶ。各細胞(クローン)が異なる抗原特異的な受容体(T細胞抗原受容体:TCR)を発現し、抗原を認識する。機能により、種々のサイトカインを産生したり、B細胞からの抗体産生の調節をしたりするもの(ヘルパーT細胞)や、標的細胞に傷害を与えるもの(キラーT細胞)などがある。

NF- κ B

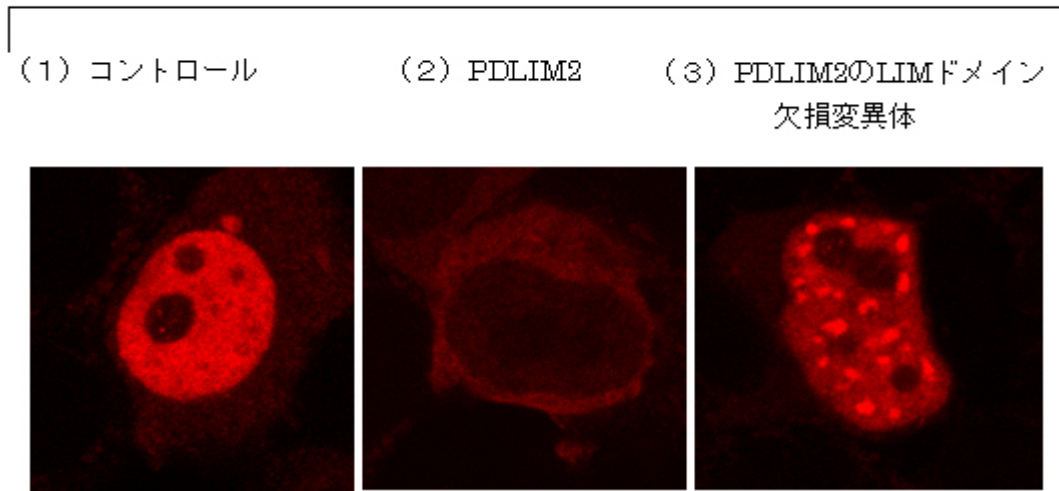


図1 PDLIM2によるNF- κ Bの分解と核内輸送

(1)培養細胞にNF- κ Bを発現させると、中央部の核の中のNF- κ Bが赤色の色素のついた抗体で染色される。(2)ここにPDLIM2を共に発現させると、核の中の赤色の染色が消失し、NF- κ BがPDLIM2により分解されたことがわかる。(3)ユビキチン化に必要なLIMドメインを欠損させたPDLIM2をNF- κ Bと共に発現させた場合には、NF- κ Bは核内ボディに運ばれるが、ユビキチン化されていないためうまく分解されない。そのため、核内ボディに蓄積したNF- κ Bが、赤色の斑点状に認められる。

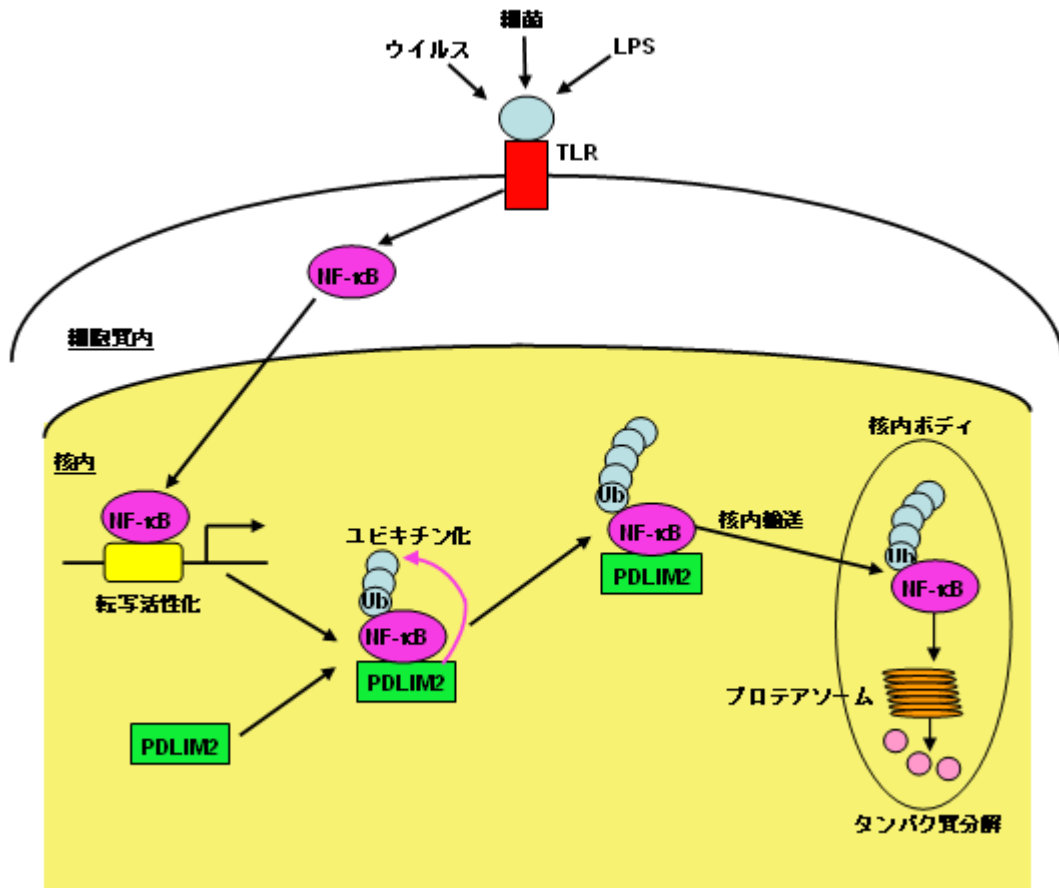


図2 PDLIM2がNF-κBを不活性化するメカニズム

PDLIM2は活性化された核内のNF-κBをユビキチン化(Ub)すると共に、核内ボディという隔離された場所に輸送する働きをもつ。NF-κBは、この分画で、プロテアソームにより分解されることで、最終的に不活性化される。

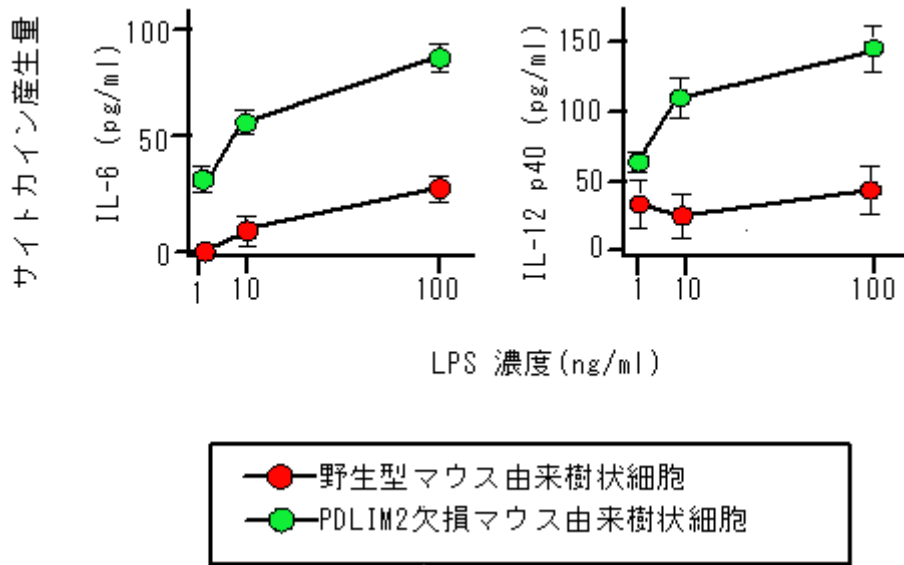


図3 PDLIM2欠損マウス由来の樹状細胞と野生型樹状細胞の比較

PDLIM2欠損マウス由来の樹状細胞においては、LPSで刺激したときのサイトカインの1種であるIL-6およびIL-12p40の産生が、野生型樹状細胞と比べて増加していた。