

201307006B

厚生労働科学研究費補助金
創薬基盤推進研究事業

漢方薬によるメタボリック症候群の病態基盤「自然炎症」の制御

平成23年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 丸山 征郎

平成26(2014)年3月

目 次

I. 総合研究報告	
漢方薬によるメタボリック症候群の病態基盤「自然炎症」の制御	
鹿児島大学・丸山征郎	----- 1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	
	----- 5
III. 研究成果の刊行物・別刷	
	----- 7

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総合研究報告書

研究課題：漢方薬によるメタボリック症候群の病態基盤「自然炎症」の制御

研究代表者 丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任教授

研究要旨

メタボリック症候群（糖尿病、高脂血症など）の病態基盤には“自然炎症”が存在し、これがマイルドであるが、持続、遷延して、結果として不可逆的な臓器障害（慢性腎炎、動脈硬化・血栓症など）を引き起こすことが判明してきた。この自然炎症は古典的ないわゆる“紅腫熱疼”、緊急性機能障害を伴わないが、最終的には臓器機能廃絶、そして silent killer として働くため、今後の治療上の大きな標的となっている。しかし原疾患のコントロールによる間接的な方法しか存在しないのが現状である。

そこで本研究では、漢方薬を自然炎症制御の一方策として確立することを目的として、代表的漢方薬、生薬の効果の評価、検証とその作用メカニズムについて検討した。

研究の結果、漢方薬を構成する生薬の中に、抗酸化、酸素ラディカル制御、DAMPs の代表である HMGB1 の産生放出を抑制し、メタボリック症候群の治療に有望な処方が存在しうることを証明し得た。

研究分担者 丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任教授
研究分担者 伊藤 隆史 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任講師
研究分担者 川原 幸一 大阪工業大学生命工学科・教授
研究分担者 橋口 照人 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・教授
研究分担者 大山 陽子 鹿児島大学医学部歯学部附属病院検査部・特任助教

A. 研究目的

目的:メタボリック症候群の病態の基盤である“自然炎症”の治療に漢方薬が有効な一手段となることを検証する。

1) 漢方薬のなかで、炎症性疾患に使われている薬方を選び、それが実験的炎症に有効であるか、否かを調べた。炎症モデルとしては、アデニン経口摂取による実験的腎炎をラットに作製して、五苓散とその構成生薬を投与して、生化学的、病理学的に効果を判定した（大山、丸山ら）。

2) 研究の過程で、遠志（オンジ、加味帰脾湯、帰脾湯、人参養榮湯などに含有）のなかに、1,5-anhydrofructose, 以下 1、5-AF)が含まれており、これが抗炎症活性を持つことを突き止めたので、その抗炎症活性のメカニズムにつ

いて検討した（丸山ら、伊藤ら、川原ら）。

3) 自然炎症には HMGB1 が重要な役割を果たすことは申請者ら、他の国内外の研究者らによって報告されている。そこで本研究では、HMGB1 の 発現、細胞外遊離に対する生薬やその成分の効果をも in vivo, in vitro で検討した（大山、伊藤、丸山ら）。

4) 炎症、特に自然炎症と糖尿病の関係について、特に血管新生、糖代謝、糖尿病との面から研究した（橋口ら）。

（倫理面への配慮）

すべて大学の倫理委員会の認可のもとに研究を実施した。

B. 研究方法

1. 生薬、食品中の抗自然炎症活性の検証

1) 精製 1,5-AF (生薬:遠志中に含まれている)の抗炎症活性を培養細胞とマウスを使った実験で行った。

① *in vitro* 試験:培養ラット腹腔マクロファージを各種濃度の 1,5-AF 存在下で、エンドトキシン (LPS) と ATP, あるいはその他の DAMPs/PAMPs で刺激し、上清中の IL-1 β , TNF α , HMGB1 を ELISA で測定した。

② *in vivo* 実験: LPS 腹腔内投与前後で、1,5-AF を同じく腹腔内投与して生存率を調べた。

2) 1,5-AF の抗炎症活性の作用メカニズムの解析: 1,5-AF に抗炎症活性を *in vitro*, *in vivo* 双方で認めたので、その分子機序を明らかにする目的で、免疫ブロット法でインフラマソームの挙動を解析した。

2. 食品中の自然炎症惹起分子の同定とその炎症惹起の分子細胞機構

1) 各種日本産イチゴの素分画、HPLC で高度に分画した成分について、その血小板活性化抑制作用を調べた。

2) 食品によるメタボリック症候群の発症機構を明らかにする目的で、パルミチン酸の pro-inflammatory, pro-coagulant 活性とその分子細胞機構について解析した。

3. 実験的腎炎

アデニン混入させた食餌を摂食させて、同時に五苓散をも経口投与して五苓散の効果を生化学的(尿、血液)、腎組織病態学的に評価した。病理組織的解析としては HMGB1 の沈着とその酸化還元状態をウエスタンブロットで解析した。

C. 研究結果

1) アデニン投与慢性腎炎に対する五苓散の効果

五苓散には実験的腎炎を生化学的、組織学的に軽減させる活性が観察された。すなわち組織学血中の HMGB1 濃度、酸素ラジカル濃度の低下などである。また組織学的にも腎臓における HMGB1 の発現、沈着を抑制する傾向が観察された。*In vitro* の実験でも五苓散(とその構成生薬、澤瀉、茯苓など)は樹状細胞、マクロファージにおける HMGB1 の発現、細胞外遊離を抑制した。

2) 1,5-AF は *in vitro* のみならず、*in vivo* においても抗炎症的に作用した。その抗炎症性活性は、HMGB1 発現と細胞外へ遊離の抑制、TNF α , IL-1 β , IL-18 の産生の抑制であることが明らかとなった。そしてその分子メカニズムは、PRRs(pattern recognition receptors)-インフラマソーム活性化の抑制を介するものであった。

D. 考察

「メタボリック症候群の病態の基盤は自然炎症であるという概念」の確立は最近のトピックスであり、この自然炎症を標的とした治療法の開発が望まれている。しかしながら、従来の古典的炎症の治療薬である抗炎症療法すなわち、PG 制御製剤、炎症性サイトカインを標的とした治療法(生物学的製剤やアンタゴニストなど)は、投与方法(多くは注射薬であること)的に煩雑であること、高価であること、そしてなによりも自然炎症という慢性的な炎症には効果が限定的であり、逆に副作用が出やすいこと、などの理由で、より自然炎症の制御に標的が合った治療法の開発が望まれている。これらの現状を踏まえ、申請者らは漢方薬に着目して今回の研究を展開した。

結果、五苓散が実験的腎炎モデルラットに一定の効果を示すこと、その分子細胞基盤に、HMGB1 の細胞外放出の抑制や酸素ラジカルの発生抑制があることをつきとめた。

さらに生薬:遠志の中には 1,5-AF という単糖が含まれており、これが幅広く炎症を抑制すること、それは IL-1 β , IL-18, TNF α , HMGB1 の産生抑制など炎症性サイトカインの産生と細胞外分泌の抑制によることを明らかにしえた。

そしてこれらの炎症性サイトカイン産生・放出抑制の機序、すなわち 1,5-AF の標的分子も明らかにしえた。その分子細胞基盤に炎症の中核である PRRs(Pattern recognition receptors) から下流のシグナル伝達経路の抑制であることを証明し得た。

E. 結論

メタボリック症候群の病理基盤である“自然炎症”に対しては、現在のところ、この自然炎症そのものを標的とした有力な治療法は無い状態であるが、今回の研究で、漢方薬やその構成成分の生薬のある種のものが、有効であることを基礎的研究ないし、動物実験により明らか

にすることが出来た。残された問題は患者を対象とした臨床研究でのエビデンスであるが、今後これを「医師主導型」治験などで検証してゆくことが課題である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shrestha C, Ito T, Kawahara KI, Shrestha B, Yamakuchi M, Hashiguchi T, Maruyama I: Saturated fatty acid palmitate induces extracellular release of histone H3: A possible mechanistic basis for high-fat diet-induced inflammation and thrombosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 437, 573-578, 2013.

Sarikaphuti A, Nararatwanchai T, Hashiguchi T, Ito T, Thaworanunta S, Kikuchi K, Oyama Y, Maruyama I, Tancharoen S: Preventive effects of *Morus alba* L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Exp Ther Med*, 6, 689-695, 2013.

丸山 征郎「炎症のトポロジーへの血球関与のスペクトラム」別冊 *BIO Clinica* 慢性炎症と疾患、丸山 征郎 編集、北隆館、9-13 頁、2013 年

伊藤 隆史「PAMPs/DAMPs のセンサー細胞としてのマクロファージ・樹状細胞」別冊 *BIO Clinica* 慢性炎症と疾患、丸山 征郎 編集、北隆館、84-89 頁、2013 年

Takenouchi K, Shrestha B, Yamakuchi M, Yoshinaga N, Arimura N, Kawaguchi H, Nagasato T, Feil R, Kawahara KI, Sakamoto T, Maruyama I, Hashiguchi T: Upregulation of non- β Cell-derived Vascular Endothelial Growth Factor A Increases Small Clusters of Insulin producing Cells in the Pancreas. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2014. in press

伊藤 隆史「メタボリックストレスと自然炎症」*Thrombosis Medicine*、第 4 巻、第 2 号、52-55 頁、2014 年

丸山 征郎「東洋医学における血管観」*血管医学*、第 15 巻、第 1 号、87-91 頁、2014 年

丸山 征郎「生体のシステムから観た漢方の有効性とその作用機序」*日本東洋医学会専門医会誌 (DVD)*、2014 年

丸山 征郎「より大いなるヒトの生存の原理と戦略を俯瞰する - 漢方薬の論理と効果 -」*Kampo Square*、2014 年 印刷中

2. 学会発表

伊藤 隆史、第 36 回 日本血栓止血学会学術集会にて発表予定(平成 26 年 5 月 29~31 日)

大山 陽子、第 65 回 日本東洋医学会学術集会総会にて発表予定(平成 26 年 6 月 27~29 日)

G. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得

1, 5-AF の抗炎症性に関しては国内、国外出願中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
丸山 征郎	炎症のトポロジーへの血球関与のスペクトラム	丸山 征郎	別冊BIO Clinica 慢性炎症と疾患	北隆館	東京都	2013	9-13
伊藤 隆史	PAMP s /DAMP s のセンサー細胞としてのマクロファージ・樹状細胞	丸山 征郎	別冊BIO Clinica 慢性炎症と疾患	北隆館	東京都	2013	84-89

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shrestha C, Ito T, Kawahara KI, Shrestha B, Yamakuchi M, Hashiguchi T, Maruyama I.	Saturated fatty acid palmitate induces extracellular release of histone H3: A possible mechanistic basis for high-fat diet-induced inflammation and thrombosis.	Biochem Biophys Res Commun.	437	573-578	2013
Sarikaphuti A, Nararatwanchai T, Hashiguchi T, Ito T, Thaworanunta S, Kikuchi K, Oyama Y, Maruyama I, Tancharoen S.	Preventive effects of Morus alba L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats.	Exp Ther Med.	6	689-695	2013
Takenouchi K, Shrestha B, Yamakuchi M, Yoshinaga N, Arimura N, Kawaguchi H, Nagasato T, Feil R, Kawahara KI, Sakamoto T, Maruyama I, Hashiguchi T	Upregulation of non- β Cell- derived Vascular Endothelial Growth Factor A Increases Small Clusters of Insulin producing Cells in the Pancreas.	Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes	in press	in press	2014
伊藤 隆史	メタボリックストレスと自然炎症	Thrombosis Medicine	4 (1)	52-55	2014

丸山 征郎	東洋医学における血管観	血管医学	15 (1)	87-91	2014
丸山 征郎	生体のシステムから観た漢方の有効性とその作用機序	日本東洋医学会専門医会誌 (DVD)			2014
丸山 征郎	より大いなるヒトの生存の原理と戦略を俯瞰する - 漢方薬の論理と効果 -	Kampo Square	In press		2014

III. 研究成果の刊行物・別刷

総論 炎症のトポロジーへの 血球関与のスペクトラム

まるやま いくろう
丸山 征郎

鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科
システム血栓制御学 (メディポリス連携医学)



丸山 征郎
1972年、鹿児島大学医学部卒業後、米國セントルイス市ワシントン大学(1982～85年)にて血管内皮細胞の研究(トロンボモジュリンの純化精製、構造と機能などに従事。帰国後遺伝子クローニング、遺伝子組み換え体の臨床展開に従事。研究テーマ：PAMPs/DAMPsと生体反応
趣味：チェロ(練習中)、ジョギング、フルマラソン

Key words : topology of inflammation, DAMPs, PAMPs, inflammasome

はじめに

これまで炎症は、紅腫熱疼(+機能障害)、すなわち紅く腫れて熱感を帯びて痛み、そして機能障害をきたす病態概念で把握され、治療の標的とされてきた。しかし実は、炎症の「場」こそ、免疫応答や止血や治癒修復のプラットフォームでもあり、生体にとって、侵襲に対する防御と修復にむかう必須のプロセスでもある。問題は過剰、あるいは時空と程度を逸脱した炎症が確かに生命活動の維持にとって負の要素が大きく、これは治療の対象となるのである。このように炎症は、痛みや腫脹という負の要素とトレードオフしつつ、感染防御、修復などのプラスの面を発揮しているのである。

本特集の意図は、炎症の位相、トポロジーが時間的、空間的に逸脱して、慢性化、急性転化、急性増悪、あるいは遠隔臓器波及に至るといった病態について、特に血球の関与という点を念頭に置きつつ解説展開するということである。

1. 炎症のダイナミズム： PAMPsとDAMPsによって 構築される生体防御系

1) ダイナミックホメオステシス

我々は始終何らかの侵襲に曝されている。これらの侵襲のうち、外因性のものは多くは病原微生物由来の分子やそのフラグメントであり、これらはPathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) と呼ばれる。一方、体内でも細胞や組織が崩壊して生成される分子類のなかで、一種の異物として作用する分子類がある。それらの因子はDamage-Associated Molecular Patters (DAMPs) と呼ばれる。PAMPsもDAMPsも細胞膜上あるいは細胞内に発現しているPattern Recognition Receptors (PRRs) によって認識されて炎症を惹起する¹⁾(図1)。PAMPs, DAMPsは細胞内NF- κ Bの活性化を引き起こし、IL-18, IL-1 β の前駆体(pro-IL-18, pro-IL-1 β)を産生、細胞内に蓄積する²⁾(図2)。しかしこれらのサイトカインは、プロ型の状態では細胞外には放出されず、セカンド刺激として各インフラマソーム(inflammasome)

Topology of inflammation and spectrum of blood cell contributions : Ikuro Maruyama, Systems Biology in Thromboregulation (Cooperation with Medipolis Research Institute), Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

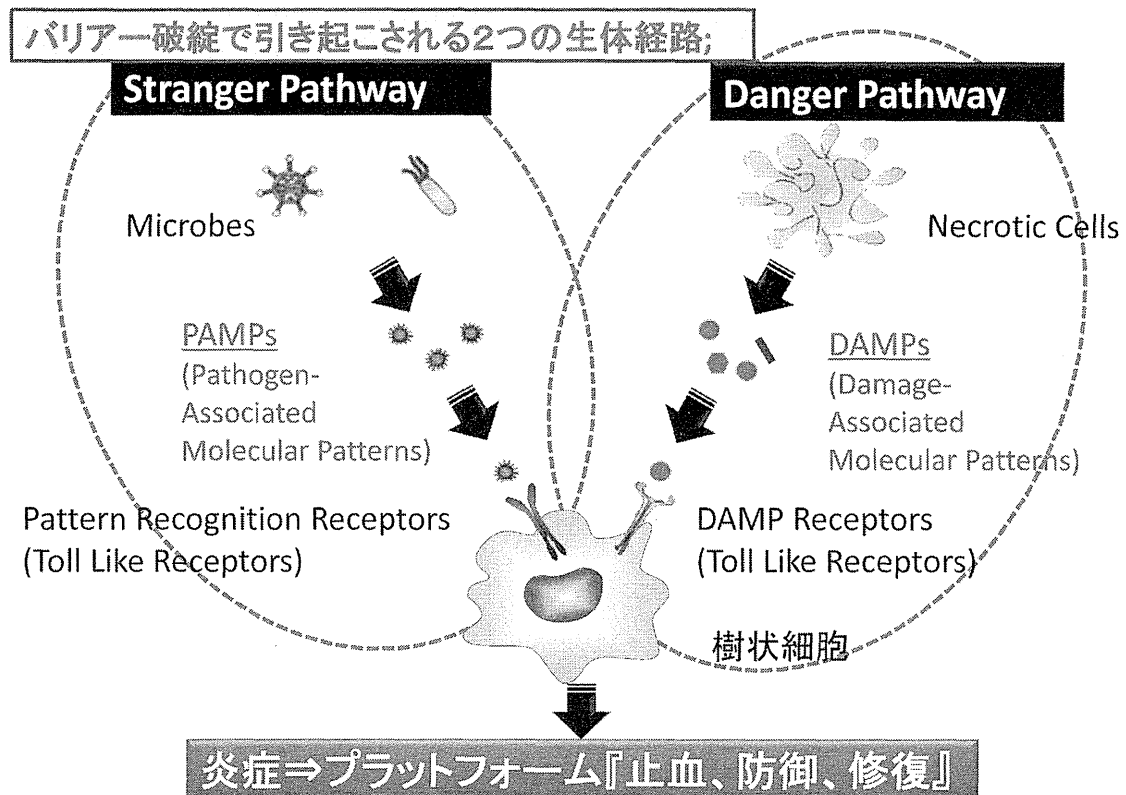


図1 PAMPs, DAMPs と Pattern Recognition Receptors (PRRs) による侵襲応答

によって procaspase-1 が caspase-1 に活性化されて初めて, pro-IL-18, pro-IL-1 β が成熟型となり, 細胞外に放出される。細胞外では IL-1 β , IL-18 はリンパ球, NK 細胞を集簇させ, IFN- γ をはじめとする炎症性サイトカインの産生を促し, かくて当該部位で炎症が惹起される³⁾。このように PAMPs や DAMPs に曝される機会の多い非免疫組織の表皮や各臓器の表皮では, pro-IL-1 β , Pro-IL-18 を作って準備状態とし, 次の刺激 (セカンドアタック) で速やかに IL-1 β , IL-18 として細胞外に遊離し, 当該侵襲部位に白血球類を呼び寄せて, 生体防御的免疫系を構築する。このように PAMPs, DAMPs は生体内細胞にあまねく

発現している PRRs-inflammasome を介して炎症・免疫, 止血・修復のスクランブル状態としておくことで, 中枢・末梢の神経系, 自律神経系, 内分泌系とは異なったダイナミックでしなやかな応答態勢を構築しているといえよう (図2)。

2) ダイナミックホメオステシスから急性転化, 急性増悪, 遠隔臓器合併症へ

PAMPs-PRRs 経路あるいは DAMPs-PRRs 経路の片方からのシグナルで準備状態 (pro-IL-1 β , pro-IL18 の産生) を作り, セカンド刺激で, 一挙に成熟型の IL-1 β , IL-18 放出を起こすという仕組みは, 緊急の生体防御に有利

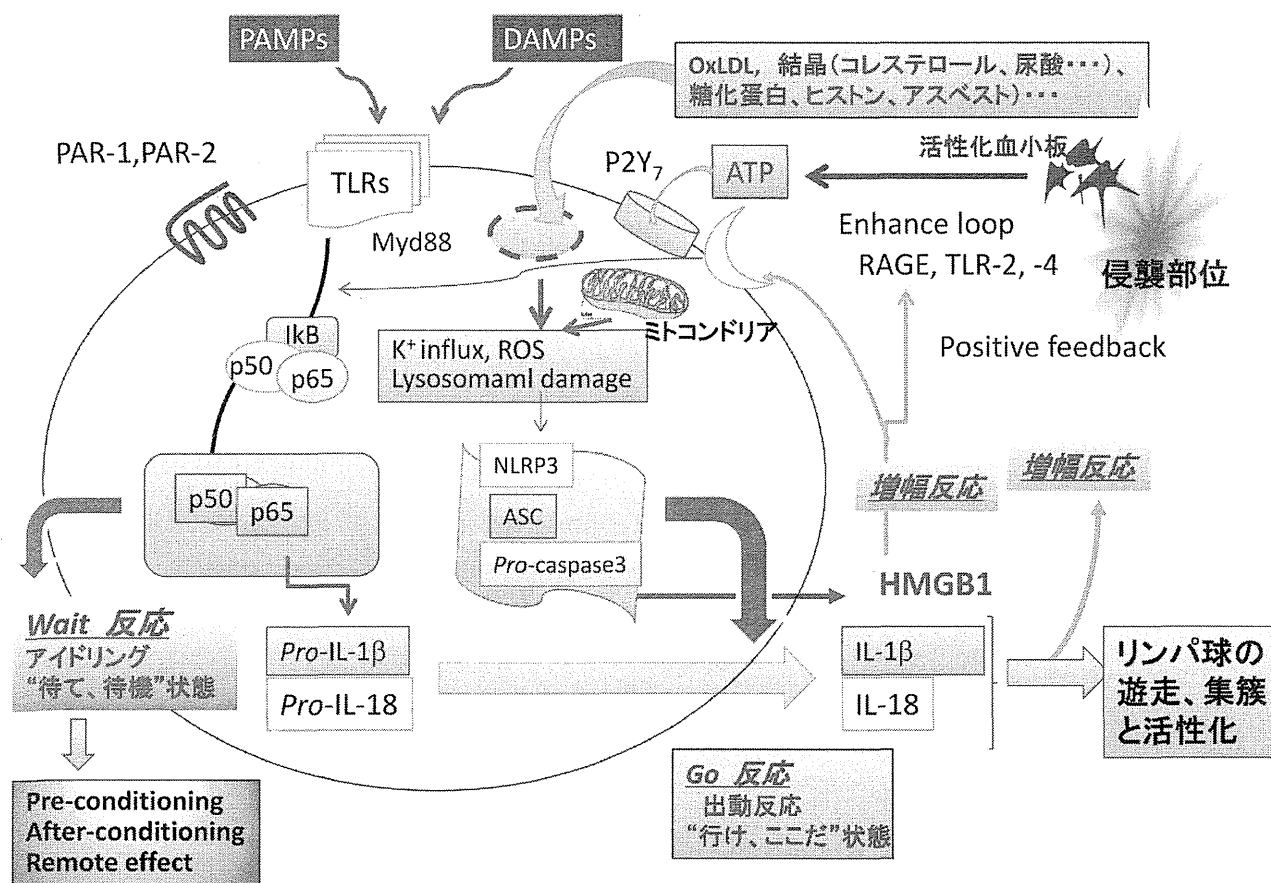


図2 PAMPs/DAMPs シグナリングと活性化血小板由来のATPによる反応の時間的、空間的増幅と拡散

である(緊急—増幅型応答)。しかし一方では、これは諸刃の刃でもある。すなわち DAMPs (あるいは PAMPs) により、インフラマソーム、あるいは NF-κB 活性化状態となっている白血球が循環している状態で、セカンド刺激が入ってくると、一挙に炎症が惹起されることになる。例えば肺や腎、消化管—肝臓など、外に開かれた臓器において PAMPs の侵襲を受けると、その臓器では一挙に炎症が発症する。いわば“出会いがしら”のアクシデンタルな病態で、間質性肺炎の急性増悪や、なんらかの基礎疾患がある状態、老化などでの肺炎や急性転化などがこれにあたる。さらにこれが

全身性に波及すると、Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) や播種性血管内凝固症候群(DIC)⁴⁾などの病態に発展する。

2. 反応の最上流としての骨髄

1) 骨髄幹細胞はリンパ管をパトロールして、障害部位で活性化、成熟化する

骨髄幹細胞は骨髄で産生されると、静脈系⇒リンパ管内を流れてパトロールしており、組織臓器の侵襲障害部位で活性化されて分化し、“その現地”で増殖して、修復に働く⁵⁾。このように骨髄幹細胞は、骨髄からスタート

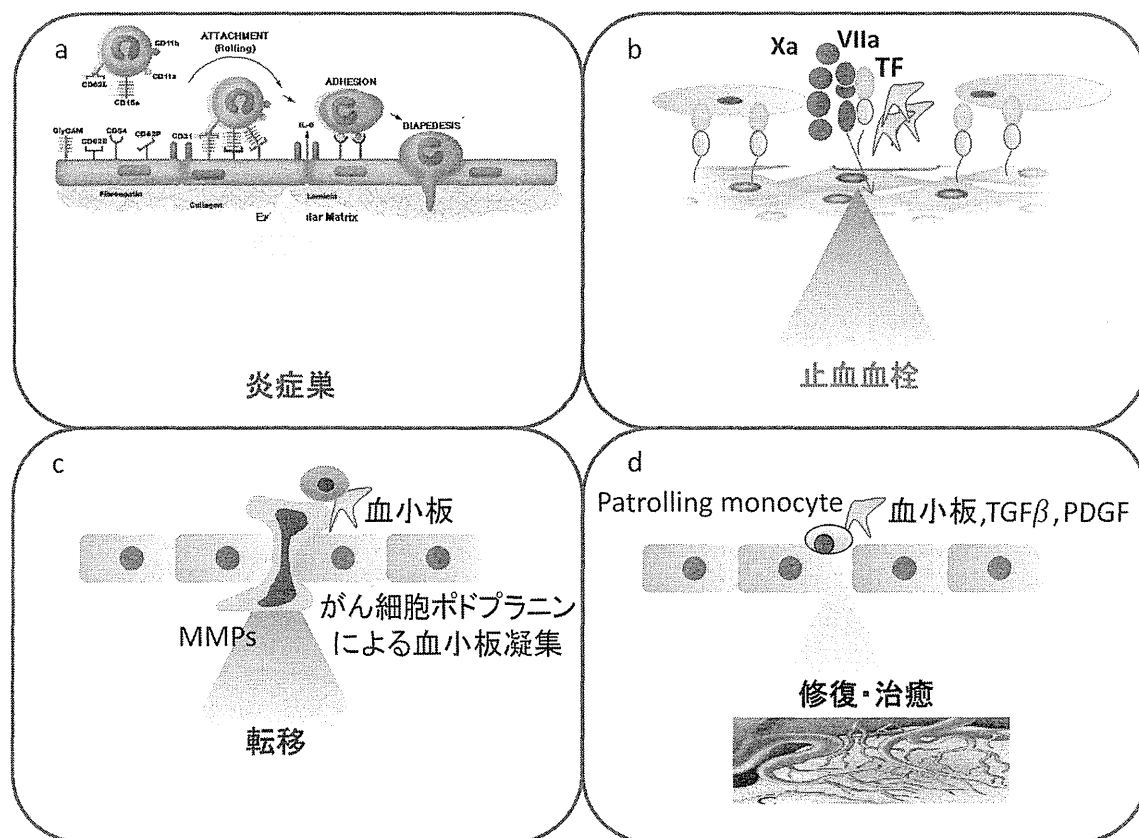


図3 “流れる組織”としての血液とパトローリング単球 (d)

して、全身を循環し、異状部位の認識と修復に働いているという意味では、“流れる前駆体組織”ともいえよう。

2) 途中下車は末梢が決める

血管の中には前述の多機能性骨髄幹細胞のほかに、末梢の血管網の異状部位を認識するパトローリング単球も流れており⁶⁾、異状部位の認識と修復にあたる(図3)。例えば血管損傷が生ずると、その部位を速やかに認識して、止血と免疫に預かる。一方、損傷血管部位では、周辺の活性化内皮細胞の Weibel-Palade 小体から巨大分子型の von Willebrand

因子(vWF)が放出され、これが露出したコラーゲンに結合し、このコラーゲン・vWF に対して血小板が粘着・凝集してくる。この血管損傷部位には組織因子も露出しており、これに活性化凝固第Ⅶ因子が結合して凝固の外因系のトリガーが引かれる。このプロセスは“止血機転”とそこを足場にした修復反応に他ならないが、生成された血栓の表面には、活性化内皮細胞や単球からマイクロパーティクルが放出されて、血小板や血栓表面に結合して止血・炎症反応を促進する⁷⁾。このように“流れる組織”としての末梢血幹細胞ほか血球がどこで“下車”して、止血・修復・炎症・免

系応答を発揮するかは、末梢が決めることになる。すなわち末梢のダイヤモンドである。

3. マイクロベジウル類と NETs が創る 新たなホメオステシス

血球をはじめ、生体内の種々の細胞がアポトーシス、あるいは活性化されると、マイクロパーティクルをはじめとする種々のマイクロベジクルを放出する⁸⁾。このマイクロベジクルは、サイズ、生成過程、内蔵物によって、いくつかに分類されているが⁹⁾、生体の諸過程を制御する新たな細胞生物学の様式であることが判明してきて、現在、炎症やがんなどとの関連が精力的に研究されている。

一方、血小板は単球や好中球とハイブリッドを形成して接着性を高める一方、好中球からの核を放出させることも判明してきた。これを Neutrophil Extracellular Traps (NETs) と称するが、NETs の中には好中球由来の DNA は DAMPs としてのヒストンや、HMGB1, elastase などが含まれており、殺菌や炎症、血栓の形成などに大きな役割を果たすことが注目されている¹⁰⁾。

おわりに

血球、あるいはその断片であるマイクロベジクル、逆に好中球と血小板のハイブリッド、

NETs などは新たな炎症像を提示しつつある。本特集では、血球と炎症の関係について、それぞれのパートのフロントランナーに関して解説してもらった。

文 献

- 1) John D Hansena b, Lucia N Vojtechb, Kerry J Laingc. Sensing disease and danger: A survey of vertebrate PRRs and their origins. *Dev Comp Immunol*, 2011; 35: 886-897.
- 2) A Kun-Hung Chen, Shih-Chang Lin. The Inflammasome activation in Immune Responses and Human Diseases. *Clinical Molecular Medicine*, 2012; 3(2): 7-9.
- 3) Dirk E Amith. The biological paths of IL-1 family members IL-18 and IL-33. *J Leukoc Biol*, 2011; 89: 383-392.
- 4) Ito T, Kawahara K, Nakamura T, *et al.* High-mobility group box 1 protein promotes development of microvascular thrombosis in rats. *Thromb Haemost*, 2007; 5(1): 109-16.
- 5) Steffen Massberg, Patrick Schaerli, Irina Knezevic-Maramica, *et al.* Immunosurveillance by Hematopoietic Progenitor Cells Trafficking through Blood, Lymph, and Peripheral Tissues. *Cell*, 2007;131, 994-1008.
- 6) Filip K Swirski, Matthias Nahrendorf, Martin Etzrodt, *et al.* Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites. *Science*, 2009; 325: 612-615.
- 7) Shahrokh Falati, Qingde Liu, Peter Gross, *et al.* Accumulation of Tissue Factor into Developing Thrombi *In Vivo* Is Dependent upon Microparticle P-Selectin Glycoprotein Ligand 1 and Platelet P-Selectin. *J Exp Med*, 2003; 197: 1585-1598.
- 8) Bence György, Tamás G. Szabó, Mária Pásztói, *et al.* Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*, 2011; 10: 7-18.
- 9) Clotilde Théry, Matias Ostrowski, Elodie Segura. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 2009; 9: 581-593.
- 10) Elzbieta Kolaczowska, Paul Kubes. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 2013; 13: 159-175



13 PAMPs/DAMPs の センサー細胞としての マクロファージ・樹状細胞

いとう たかし
伊藤 隆史

鹿児島大学病院 医歯学総合研究科
システム血栓制御学 (メディポリス連携医学)



伊藤 隆史
2001年、鹿児島大学医学部卒業。
2007年、同大学大学院医学研究科卒業。
同年、ジョンズ・ホプキンス大学
(Postdoctoral Research Fellow)。2009年、
ロチェスター大学 (Postdoctoral Research
Associate)。2011年、鹿児島大学大学院
医歯学総合研究科 (特任講師)。
研究テーマ：炎症と血栓
趣味：テニス

Key words : PAMPs, DAMPs, パターン認識受容体

Abstract

獲得免疫細胞が非自己抗原に出会ったとしても、それだけでは免疫応答は作動しない。自然免疫細胞による補助刺激シグナルが必要である。自然免疫細胞は獲得免疫細胞のような抗原特異的受容体は持ち合わせていないが、パターン認識受容体でもって感染や組織損傷の兆候を察知し、補助刺激分子を発現するようになる (図1)。感染の兆候は、外来微生物に共通で特有の構成成分 (Pathogen-associated Molecular Patterns : PAMPs) という形でパターン認識され、組織損傷の兆候は、損傷に伴って細胞外へと放出される細胞内分子 (Damage-associated Molecular Patterns : DAMPs) という形でパターン認識される。この自然免疫細胞によるパターン認識が、それに続く獲得免疫応答のスイッチを入れているのである。

はじめに

—自然免疫細胞の監視対象—

「免疫細胞は何を監視しているのか？」という問いは免疫学の中心テーマである。Burnetはクローン選択説において、監視対象が「非自己」であることを提唱した。あらゆる抗原レパートリーの中で、自己に反応するリンパ球が発生初期段階で取り除かれ、非自己に対

する監視体制を作り出しているのである。しかしながら、免疫細胞が非自己抗原に出会ったとしても、それがありふれた無害な抗原であれば、免疫応答は作動しない。Janewayは、非自己に対する獲得免疫応答のスイッチは、自然免疫系が「感染」の兆候を察知した際に「オン」になると考え、監視対象は「感染性の非自己」であることを提唱した。その一方で、MatzingerはJaneway説では移植免疫、腫瘍免疫、自己免疫などを説明できないことに注目し、非自己に対する獲得免疫応答のスイッチは、自然免疫系が「危機的状況」を察知した際に「オン」になると考え、監視対象は「宿主の細胞が被ったダメージ」であることを提唱した。外来微生物であっても、共生的で無害であれば免疫応答は生じないし、非感染性の腫瘍であっても、細胞壊死を伴えば免疫応答は生じうる、という考えである^{1,2)}。実際には、Janeway説の「感染の兆候」は、外来微生物に共通で特有の構成成分 (PAMPs) という形で認識され、Matzinger説の「危機的状況」は、ダメージの結果として細胞外に漏れ出てくる細胞内成分 (DAMPs) という形で認識される。自然免疫細胞はパターン認識受容体というセンサーを発現していて、PAMPs および DAMPs の存在を常に監視しているのである (図1)。

PAMPs/DAMPs are subjects to surveillance by innate immune cells : Takashi Ito, Systems Biology in Thromboregulation (Cooperation with Medipolis Research Institute), Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

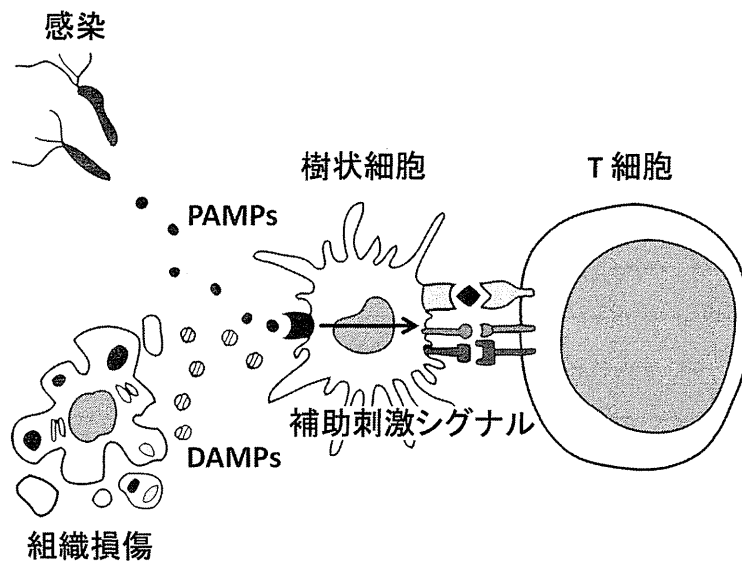


図1 獲得免疫応答に必要な抗原提示と補助刺激

表1 代表的な PAMPs/DAMPs と宿主免疫細胞の受容体

起源	PAMPs	受容体	起源	DAMPs	受容体
細菌	エンドトキシン	TLR4	核	HMGB1	RAGE, TLRs
	リポプロテイン	TLR2		ヒストン	TLR2, 4
	フラジェリン	TLR5		DNA	TLR9
	CpG-DNA	TLR9		RNA	TLR3
	RNA	NLRP3		fMLP	FPR1
ウイルス	dsRNA	TLR3, RIG	ミトコンドリア	DNA	TLR9
	ssRNA	TLR8	細胞質 他	尿酸	NLRP3
	CpG-DNA	TLR9		ATP	NLRP3
真菌	β -グルカン	Dectin		S100	RAGE

PAMPs/DAMPsとして、現在、数百種類の分子が報告されており、それらは数十種類のパターン認識受容体によって察知される(表1)。具体的には、グラム陰性菌の細胞壁の構成成分であるエンドトキシン(Lipopolysaccharide: LPS)、鞭毛の構成成分

であるフラジェリン、ウイルスの二重鎖RNA(dsRNA)、真菌の β -グルカンなどがPAMPsにあたり、宿主の自然免疫細胞は、Toll様受容体(Toll-like Receptors: TLRs)などのパターン認識受容体でPAMPsの存在を監視している。一方、DAMPsとしては、宿主細胞の核

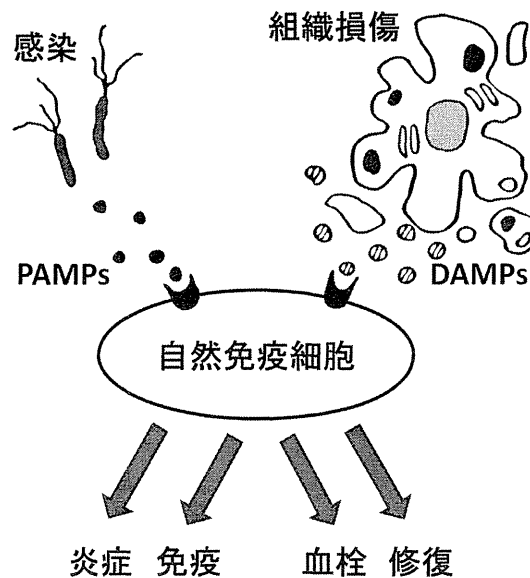


図2 PAMPs/DAMPs 刺激と細胞応答

内タンパク質である High-mobility Group Box 1 (HMGB1), ミトコンドリアに含まれているホルミルペプチド (fMLP), エネルギー通貨であるアデノシン三リン酸 (ATP), 核酸最終代謝産物である尿酸などが知られていて, これらの分子が細胞外に漏出すると, 細胞損傷の兆候として自然免疫細胞に察知される。

組織損傷部位に呼び寄せ, さらにはこれらの細胞を活性化して炎症性サイトカインの発現を誘導する^{2,4-6)}。また, 幹細胞を組織損傷部位に呼び寄せ, 創傷治癒にも寄与している⁷⁾。このように, アラーミン (DAMPs) は組織損傷後の炎症, 免疫, 創傷治癒を誘導する分子として, 生体防御に重要な役割を担っている (図2)。

1. DAMPs の役割

HMGB1 や尿酸結晶などの DAMPs は, 前述の通り, 損傷を受けた細胞から放出されると, 樹状細胞を活性化して補助刺激分子の発現を促し, 獲得免疫応答を誘導する^{2,3)}。このように, DAMPs は危機的状況を周囲に知らせるための警鐘 (アラーム) としての役割を担っていて, アラーミンとも呼ばれる。アラーミンの役割は, 補助刺激分子の発現誘導だけにとどまらない。好中球, 単球, マクロファージ, 樹状細胞などの自然免疫細胞を

2. PAMPs/DAMPs とインフラマソーム

尿酸結晶や ATP などの DAMPs は, 自然免疫細胞のインフラマソームを活性化する (図3)。インフラマソームは炎症性サイトカイン IL-1 β および IL-18 を活性化して分泌するのに必須の細胞内分子装置である⁸⁾。LPS などの PAMPs 刺激を受けた自然免疫細胞は, IL-1 β および IL-18 の前駆体 (pro-IL-1 β および pro-IL-18) を産生するが, これらはすぐに分泌されずに待機状態にある。そこに, 尿

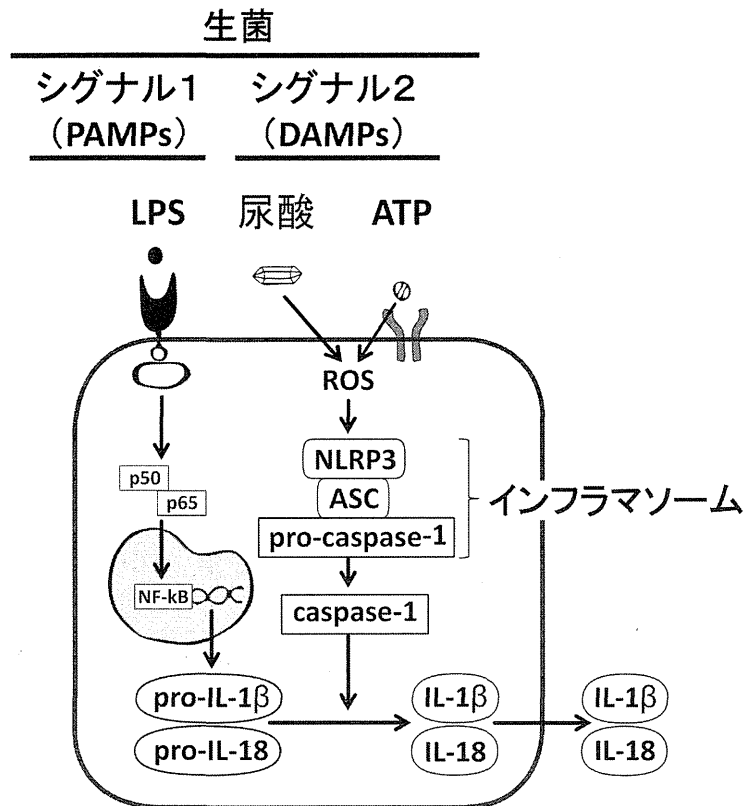


図3 IL-1βの分泌に必要な2つのシグナル

酸結晶や ATP などの DAMPs 刺激が加わると、インフラマソームが活性化され、pro-IL-1β および pro-IL-18 はそれぞれ活性型の IL-1β および IL-18 に転換され、細胞外に分泌される (図3)。このように、IL-1β および IL-18 の分泌は2ヒット方式を採用している。すでに死滅した菌であっても PAMPs は保有しているため、PAMPs のみを察知した場合には、自然免疫細胞は戦闘準備状態で待機し、続いて組織損傷を察知した場合に、炎症反応の引き金を引くのだと考えられる。こうすることで、不必要な場面での過剰な炎症反応を防いでいるのであろう。一方、生きた菌を察知した場合には、それ単独で IL-1β および IL-18 の活性化と分泌が誘導される⁹⁾。この際には、

生菌が有している poly-A tail のないメッセージ RNA がインフラマソームの活性化に重要な役割を果たしている。生菌を察知した場合には、たとえ組織損傷がなくても2ヒット分の刺激が入り、感染防御体制を迅速に整えていると考えられる。

3. DAMPs と慢性炎症

DAMPs は組織損傷に伴って壊死細胞から放出される分子と考えられていたが、その後の研究で、細胞死に至るような強い傷害でなく、軽度のストレス下においても放出されることが報告されている。ストレスが最小な状態を健常状態、最大の状態を細胞死と考え

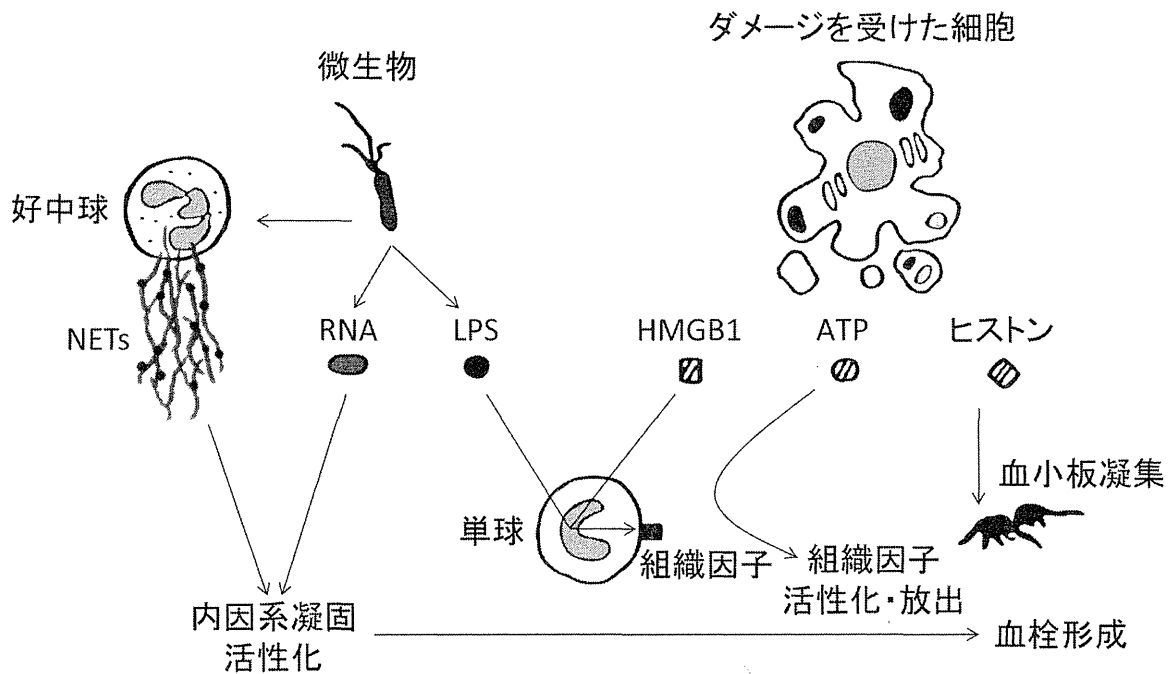


図4 PAMPs/DAMPs と血栓形成

た場合、この中間状態においては、細胞はストレスに適応し、恒常性を維持しようとする。このような状況は、*para-inflammation* もしくは自然炎症という概念で近年注目を集めていて、肥満、糖尿病、動脈硬化などの病態基盤となっている可能性が示唆されている¹⁰⁾。高血糖状態では、ミトコンドリアにおける活性酸素種の産生が増加し、これによってインフラマソームが活性化されてIL-1 β およびIL-18の分泌が惹起される¹¹⁾。過剰なコレステロールは結晶化して血管壁に沈着し、インフラマソームの活性化を介して動脈硬化を進行させる¹²⁾。また、高脂肪食の摂取や脂肪酸の負荷によるストレスで、核内タンパク質 HMGB1 やヒストンが細胞外に放出され、肥満や非アルコール性脂肪肝における炎症性変化、血栓傾向などに寄与している可能性が報告されている^{13,14)}。

4. PAMPs/DAMPs と血栓症

通常、PAMPs は上皮というバリアの外に存在し、DAMPs は細胞膜というバリアに囲まれて存在するため、血液成分もしくは血球が PAMPs/DAMPs と接することはない。しかしながら、このバリアが崩壊し、血液成分もしくは血球が PAMPs/DAMPs を察知すると、血栓形成の引き金が引かれる。単球はパターン認識受容体を介して、グラム陰性菌の細胞壁の構成成分である LPS (PAMPs) や、細胞外に放出された核内タンパク質 HMGB1 (DAMPs) を感知すると、活性化して組織因子を発現するようになる¹⁵⁾。さらに、細胞外に放出された ATP (DAMPs) は、単球表面の組織因子を活性化型に転換し、外因系凝固反応を活性化する¹⁶⁾。細菌由来の RNA (PAMPs)、