

PGE2 低下、COX 発現低下モデル (AERD 類似モデル) における病態解析

研究分担者 成 宮 周 京都大学 特任教授

研究要旨:

本研究では、PGE2 の免疫およびアレルギー炎症における役割を同定し、この役割が“ PGE2 低下、COX 発現低下モデル (AERD 類似モデル) における病態 ” にどう反映されるかを明らかにする。本年度は、PGE2 による Th17 細胞の増幅促進作用の分子機構につき検討を行なった。その結果、PGE2 が、TGFβ と IL-6 により誘導された Th17 細胞の IL-23 による増幅を用量依存的に促進すること、この促進作用は、EP2 と EP4 選択アゴニストで再現できること、上記 PGE2 による Th17 細胞の増幅は、PKA (A キナーゼ) 阻害薬で阻害され、dibutyl-cAMP および PKA アゴニストで模倣されたことから cAMP-PKA 経路を通っていること、上記 PGE2-cAMP 経路は CREB, CRTC2 依存性に IL-23 受容体サブユニット、IL-23R の誘導を起こすこと、さらに、PGE2-cAMP による IL-23R mRNA の誘導が蛋白合成阻害薬で抑制されること、を見出した。これらの結果は、PGE2 が T 細胞上の EP2/EP4 受容体に働き、cAMP-PKA-CREB/CRTC2 経路を動かして未同定の蛋白の転写を促進、この蛋白が IL-23R 遺伝子の転写に働いている可能性を明らかにしたものである。

A . 研究目的

本分担研究では、PGE2 の免疫およびアレルギー炎症における役割を同定し、その低下がいかにして NSAIDs 過敏性気道疾患の発症に結びつくかを明らかにする。NSAIDs 過敏性気道疾患は Th2 リンパ球依存性アレルギー疾患である。T リンパ球 subset には、Th2 リンパ球のほか Th1 リンパ球や Th17 リンパ球があり、PGE2 の低下がこれら T リンパ球サブセットのバランスに影響していることが考えられる。我々は、以前、PGE2 が Th1 細胞の分化促進に働くことを見出し、その分子機構を本研究で明らかにした。本年度は、PGE2 の Th17 リンパ球に対する作用と分子機構の詳細を明らかにすることを目的とした。

B . 研究方法

マウス脾臓から採取した Naive T 細胞を材料とし、これを TGFβ と IL-6 の存在下で培養することで Th17 分化を誘導し、誘導した Th17 細胞を IL-23 存在下で培養することで、

Th17 細胞を増幅する。このとき、IL-23 による Th17 細胞増幅に対する PGE2 の作用を、PGE2 の 4 種の受容体に対する選択的アゴニスト、それぞれの欠損マウス、下流のシグナル伝達の阻害薬を用いて検討した。

上記結果をもとに cAMP の T 細胞 IL-23R の誘導機構を、蛋白合成阻害薬、microarray を用いた網羅的遺伝子発現解析、下流分子の RNAi を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、京都大学医学研究科の動物実験ガイドラインに基づき京都大学実験動物委員会の審査を受け承認されて実施した。

C . 研究結果

1. PGE2 は、TGFβ と IL-6 により誘導された Th17 細胞の IL-23 による増幅を用量依的に促進した。この促進作用は、EP2 と EP4 選択アゴニストで再現できた。

2. 上記 PGE2 による Th17 細胞の増幅は、PKA(A キナーゼ)阻害薬で阻害され、dibutyl-cAMP および PKA アゴニストで模倣されたことから cAMP-PKA 経路を通っていることが示唆された。

3. 上記 PGE2-cAMP 経路による IL-23 作用の増幅のメカニズムとして、これらによる IL-23 受容体サブユニット、IL-23R、の誘導を見出した。さらに、PGE2-cAMP による IL-23R mRNA の誘導が蛋白合成阻害薬で抑制された。

4. cAMP-PKA 経路の下流にある転写因子 CREB の RNAi による枯渇により cAMP による IL-23R mRNA の誘導は抑制された。

D . 考察

Th17 細胞は様々な免疫炎症に関与する T 細胞集団であり、TGFβ と IL-6 によって naïve T 細胞より分化し、IL-23 によって安定化され増幅される。本研究は、後者の Th17 増幅過程を PGE2 が促進することを示したものであり、炎症局所の微小環境が T 細胞分化の方向に大きな影響を与えることを示唆する。IL-23 は、クローン病や乾癬などで病態形成に働いていることが報告されており、これらでは Th17 と同様に IL-17 を産生する γδT 細胞や ILC3 細胞が IL-23 依存性に増幅されることが示されている。PGE2 が Th17 細胞と同様これらの細胞集団の増幅を起こすかは今後の見当が必要である。また、今回の研究で PGE2 が IL-23 の受容体の誘導を起こすことにより IL-23 の作用を亢進することが示されたことは、PGE2 の cytokine amplifier としての働きを分子レベルで解明したものである。最近、アレルギー喘息の主たるメディエーターである Th2 細胞と Th17 細胞の間でも、Th2 と Th1 細胞間に見られる相互排他的な転写ネットワークの存在が示唆されており、今回の結果は PGE2 低下が

Th17 細胞の増幅を抑制により Th2 細胞優位の状況を惹起することを示唆しているかもしれない。

E . 結論

PGE2 による Th17 細胞の増幅促進の分子メカニズムが解明された。このことは、NSAIDs による PGE2 の活性低下が Th17 細胞の低下につながることを示唆するものであり、これが Th2 活性の上昇によるアレルギー反応の促進にいたるか、今後検討が必要である。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Yao C, Hirata T, Soontrapa K, Ma X, Takemori H, Narumiya S. Prostaglandin E₂ promotes Th1 differentiation via synergistic amplification of IL-12 signalling by cAMP and PI3-kinase. Nat Commun. 4:1685. 2013
- 2) Taketomi Y, Ueno N, Kojima T, Sato H, Murase R, Yamamoto K, Tanaka S, Sakanaka M, Nakamura M, Nishito Y, Kawana M, Kambe N, Ikeda K, Taguchi R, Nakamizo S, Kabashima K, Gelb MH, Arita M, Yokomizo T, Nakamura M, Watanabe K, Hirai H, Nakamura M, Okayama Y, Ra C, Aritake K, Urade Y, Morimoto K, Sugimoto Y, Shimizu T, Narumiya S, Hara S, Murakami M. (2013) Mast cell maturation is driven via a group III phospholipase A2-prostaglandin D2-DP1 receptor paracrine axis. Nat Immunol. 14(6): 554-563. 2013

3) Ehrlich AT, Furuyashiki T, Kitaoka S, Kakizuka A, Narumiva S. (2013) Prostaglandin E receptor EP1 forms a complex with dopamine D1 receptor and directs D1-induced cAMP production to adenylyl cyclase 7 through mobilizing G($\beta\gamma$) subunits in human embryonic kidney 293T cells. Mol Pharmacol. 84(3), 476-486.

4) Aihara K, Handa T, Oga T, Watanabe K, Tanizawa K, Ikezoe K, Taguchi Y, Sato H, Chin K, Nagai S, Narumiva S, Wells AU, Mishima M. Clinical relevance of plasma prostaglandin F₂ α metabolite concentrations in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. PLoS One. 8(6): e66017.

2 . 学会発表

1) 成宮 周 : プロスタグランジンと炎症慢性化、第53回日本呼吸器学会学術講演会、基調講演、平成25年4月19日、東京

2) 成宮 周 : プロスタグランジン・炎症・心血管系、特別講演、日本ショック学会、平成25年5月17日、東京

3) Narumiva S: GPCR-Cytokine Crosstalk: Prostaglandins as a cytokine amplifier. RIKEN RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2013 “Interface between Immune System and Environment”, June 26-27, Yokohama.

4) Narumiva S: Prostaglandins in chronic inflammation. FASEB SRC “Lysophospholipid and other Related Mediators-From Bench to Clinic”, Niseko, August 4-9, 2013.

5) Narumiva S: Prostaglandins and TLR Signaling in Stress Behaviour and Depression. シグナルネットワーク研究会、平成25年8月30日、札幌

H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし