

炎症過程における、RNA 安定化分子の局在制御メカニズムを解明

—炎症はアクセルとブレーキのバランスを変化させる—

研究成果のポイント

- ・Arid5a 過剰発現マウスでは、炎症応答過程で、インターロイキン6(IL-6)^{*1)}が過剰に産生され、敗血症性ショックが悪化する。
- ・炎症応答により、RNA 安定化分子 Arid5a^{*2)}は核から細胞質に移行する。
- ・核内輸送分子 Importin- α / β 1^{*3)}や核外輸送因子 CRM1 により、Arid5a の核-細胞質間局在が制御される。
- ・CRM1 阻害剤、レプトマイシン B^{*4)}は炎症応答後の Arid5a の核外移行を阻害し、IL-6 の産生を抑制する。

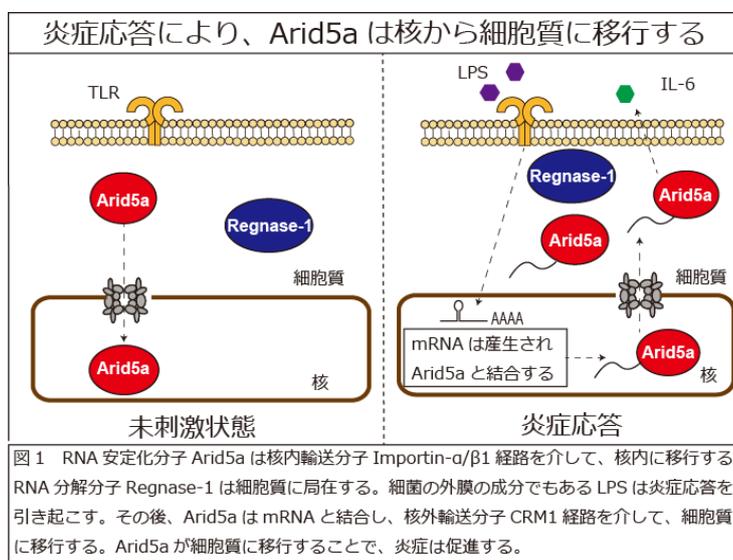
概要

大阪大学免疫学フロンティア研究センター免疫機能統御学の比嘉光大学院生、岸本忠三特任教授

(元大阪大学総長)らの研究グループは、Arid5a と呼ばれる RNA 安定化分子の動的細胞内局在による炎症応答の制御機構を解明しました。

炎症のアクセル役の Arid5a は主に核に局在し、ブレーキ役の Regnase-1^{*5)}は細胞質に局在しています。

本研究では、①炎症応答によりArid5aが核から細胞質に移行すること、②Importin- α との結合を阻害するペプチドを細胞内に強制発現させることで、Arid5a の核内輸送が阻害されること、③核外輸送分子 CRM1 阻害剤、レプトマイシン B は炎症応答後の Arid5a の核外移行を阻害することを明らかにしました。



本研究は、過剰的もしくは慢性炎症で生じる疾患の病態解明の手掛かりになり、Arid5a の核外移行の阻害は、炎症性サイトカインの1つであるインターロイキン6の減少をもたらすことから、新たな治療法の開発に繋がることが期待されます。

本研究は、国立研究開発法人、医薬基盤・健康・栄養研究所と共同で行われました。

研究の背景

免疫細胞は病原体を排除するために、IL-6 や TNF を代表とする炎症性サイトカインというタンパク質を分泌し、これが周りの免疫細胞を活性化させることで炎症を誘導させます。しかしながら、過剰、もしくは慢性化した炎症は敗血症性ショック、自己免疫疾患などの様々な病気の原因となるため、生体には、炎症をコントロールする機構が備わっています。その機構の中に、炎症を促進させる Arid5a というタンパク質と炎症を抑制させる Regnase-1 というタンパク質があります。

これまで、Arid5a が *Il6* mRNA の 3' UTR に結合し、Regnase-1 による RNA 分解作用を阻害すること、Arid5a を欠損させたマウスでは、炎症を誘導させたにも関わらず、炎症性サイトカインの産生が減少し、敗血症性ショック、肺の線維化が抑えられることが分かっていましたが、未刺激や炎症応答時における Arid5a の作用については未だ不明な点がありました。

研究内容

「Arid5a を過剰に発現させるのみで、IL-6 が過剰に産生され、炎症性疾患を誘発する」という仮説の下、研究に取り組みました。検証するために、我々は Arid5a 過剰発現マウスを作製しました。当初の予測に反し、健常時では、IL-6 の産生への影響は確認されませんでした。炎症応答により、Arid5a 過剰発現マウスでは、より IL-6 が産生され、敗血症性ショックが悪化することが示されました(図 2)。つまり、Arid5a は刺激依存的に機能を発揮することが分かりました。我々は、未刺激時と刺激時における Arid5a の細胞生物学的作用を解明するためにさらに研究を推進させました。

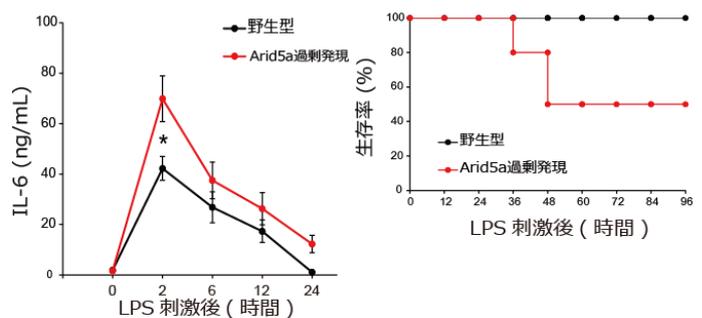


図2 Arid5aの過剰発現マウスはLPS刺激後、よりIL-6が産生され、敗血症性ショックは悪化する

RAW264.7 細胞(マウスマクロファージ様細胞株)における、内在性 Arid5a と Regnase-1 のタンパク質局在を確認しました。その結果、Arid5a は主に核内に局在し、Regnase-1 は細胞質に局在することを確認しました(図 3)。次に、どのような制御機構で Arid5a が核の中に移行するのかを解析しました。その結果、RAW264.7 細胞に、Importin- α と輸送されるタンパク質の結合を阻害するアミノ酸配列(bimax)を発現させると Arid5a の核内移行が阻害されることを確認しました。つまり、Arid5a は Importin- α / β 経路を介して核内に移行しているということが示唆されました。

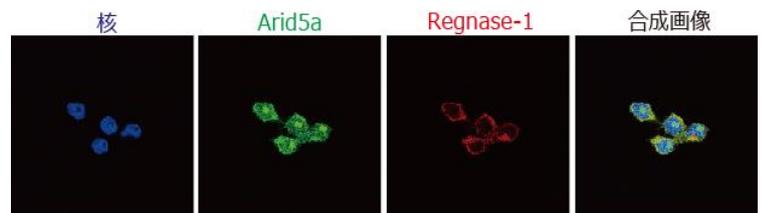


図3 内在性の Arid5a の Regnase-1 のタンパク質局在

また、炎症応答後の Arid5a の核-細胞質間の変化を調べました。方法として、LPS 刺激後に RAW264.7 細胞を核-細胞質に分離し、その後、ウエスタンブロッティングを行うことで、Arid5a がどのように変化するかを確認しました。その結果、LPS 刺激後、核内の Arid5a は減少し、細胞質内の Arid5a は増加することを発見しました(図 4)。

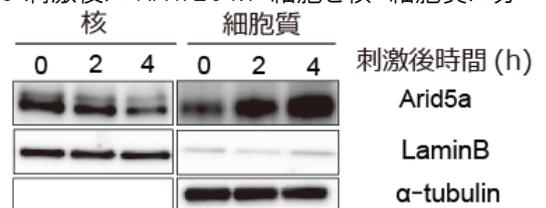


図4 Arid5a は LPS 刺激後に核内で減少し、細胞質で増加する

さらに、炎症応答後における Arid5a の核外移行について調べました。その結果、核外輸送因子 CRM1 の阻害剤、レプトマイシン B を加えると、刺激後に起こる Arid5a の核外移行が阻害され、IL-6 の産生は減少しました。

以上の結果から、Arid5a は Importin- α / β 経路を介して、核内に移行し、その後、炎症応答により、CRM1 経路を介して、核外に移行することが明らかになりました。

未刺激状態では、炎症のアクセル役である Arid5a は核内に局在し、ブレーキ役の Regnase-1 は細胞質に局在することで、不要な IL-6 の産生は抑えられています。しかしながら、IL-6 は免疫を活性化するために必要なものです。従って、炎症応答後、Arid5a は *IL6* mRNA と核内で結合し、分解機構を阻害するために細胞質に移行することが考えられます。Arid5a の細胞質移行が炎症を促進するために重要であるということが示唆されました。

今後の展開

関節リウマチをはじめとする多くの自己免疫疾患では、患者の血液中に炎症性サイトカイン「IL-6」の顕著な増加(異常産生)が認められています。また、IL-6 受容体に対する抗体「トシリズマブ」は IL-6 の信号をブロックすることにより、関節リウマチをはじめとする多くの疾患の治療に画期的な効果を発揮しています。

本研究で岸本特任教授らの研究グループは、Arid5a が炎症応答により核から細胞質に移行することを発見しました。今後、Arid5a の核外移行を阻害することで、IL-6 の減少を誘導し、敗血症性ショックや自己免疫疾患を抑えるという新規の治療戦略を提供できる可能性があります。

用語解説

*1) インターロイキン 6(IL-6)

大阪大学の岸本忠三研究室で発見された代表的な炎症性サイトカイン。特に関節リウマチの原因として有名であり、そのブロック剤は広く世界で治療薬として使われている。

*2) Arid5a(アリッド ファイブエー)

インターロイキン 6(IL6)等の mRNA に結合し、RNA を安定化させるタンパク質。炎症のアクセル役を担っているタンパク質。

*3) importin- α (インポーチン-アルファ)

細胞質から核膜孔を通して核内にタンパク質を運搬する最初の輸送因子。importin- α は基質と importin- β 間のアダプターとして働き、基質/importin- α /importin- β の3者の複合体を形成して、基質を核内へ輸送する。

*4) レプトマイシン B

レプトマイシン B は核外輸送因子 CRM1 の特異的阻害剤である。その抗腫瘍作用などが注目されている。

*5) Regnase-1(レグネース ワン)

IL6等の mRNA の分解を行うことで過剰な免疫応答のブレーキ役を担っている RNA 分解タンパク質

特記事項

掲載誌: Proceedings of the National Academy of Science of the USA (PNAS) 米科学アカデミー紀要

タイトル: "Regulation of inflammatory responses by dynamic subcellular localization of RNA binding protein Arid5a"

(Arid5a の動的細胞内局在による炎症応答の制御)

著者: Mitsuru Higa^{a,b}, Masahiro Oka^b, Yoshitaka Fujihara^c, Kazuya Masuda^a, Yoshihiro Yoneda^d and Tadamitsu Kishimoto^{a,1}.

a) 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫機能統御学

b) 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト

c) 大阪大学 微生物病研究所

d) 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

1) Corresponding author