



令和4年7月21日

報道機関 各位

熊本大学

遺伝性肺疾患におけるウイルス感染時の
炎症応答調節の破綻機序が明らかに！
-抗炎症タンパク質の mRNA 連結異常の関与-

【ポイント】

- ・ 嚢胞性線維症(CF)は、慢性気道炎症や過剰な粘液貯留、およびこれらの症状に伴う気道閉塞を呈し、若年で呼吸機能不全により死に至る難治性の遺伝性肺疾患である。
- ・ CF 患者では、ウイルス感染を引き金に過剰な炎症応答が起き、病態が悪化することが知られていたが、その詳細な機序は不明であった。
- ・ CF 患者由来の肺細胞を用いた詳細な分子解析の結果、抗炎症機能を持つ SIGIRR という膜タンパク質の合成が異常(mRNA スプライシング異常)となり、結果として、CF でのウイルス感染に対する過剰な炎症応答の制御が破綻することが明らかとなった。
- ・ 異常な SIGIRR($\Delta 8$ -SIGIRR)の生成を抑制し、正常な SIGIRR の発現を維持することが、肺の炎症調節機構において重要であることを初めて明らかにした。

【概要】

熊本大学大学院生命科学研究部(薬学系)の首藤剛准教授、崇城大学薬学部的首藤恵子講師らのチームは、遺伝性肺疾患(嚢胞性線維症)の過剰炎症の原因追求に取り組み、抗炎症機能を持つ膜タンパク質 SIGIRR 遺伝子の連結異常(mRNA スプライシング異常^{*1})が、ウイルス感染時の炎症調節の破綻を引き起こし、過剰炎症の原因の一端を担うことを世界で初めて明らかにしました。

一般に、嚢胞性線維症(Cystic Fibrosis; CF、欧米で最も患者数の多い遺伝性肺疾患)は、慢性気道炎症や過剰な粘液貯留、およびこれらの症状に伴う気道閉塞を呈し、若年で呼吸機能不全により死に至る難治性の遺伝性肺疾患です。特に、CF 患者においては、ウイルス感染などをきっかけとして過剰な炎症応答が起きることで、病態が悪化することが問題とされていましたが、その詳細な機序は明らかではありませんでした。

本研究では、CF 患者由来の肺細胞において、抗炎症機能を持つ SIGIRR という膜タンパク質の合成が異常となり、 $\Delta 8$ -SIGIRR という異常な SIGIRR タンパク質となることを発見しました。また、異常 SIGIRR ($\Delta 8$ -SIGIRR) は、遺伝子合成時の連結異常 (mRNA スプライシング異常) により生じることも明らかにしました。結果として、CF でのウイルス感染に対する過剰炎症応答が、 $\Delta 8$ -SIGIRR の生成による抗炎症機能の喪失に伴うことを明らかにし、CF の新たな治療薬の標的として、SIGIRR mRNA のスプライススイッチを初めて提起する報告となりました (図1)。

なお、これまでも、同チームは、CF 特異的な mRNA スプライシング異常が、亜鉛輸送トランスポーター Zip2 の mRNA の連結調節に影響し、粘液産生異常を引き起こすことも明らかにしてきています (DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.12.025>)。したがって、本研究は、この成果と合わせて考えることで、世界的に有名な遺伝性疾患 CF の病態の根本的な理解につながる研究成果です。本研究成果は、分子科学の分野で定評のあるオープンアクセス誌「International Journal of Molecular Sciences」で 7 月 13 日 (米国時間) に公開されました。

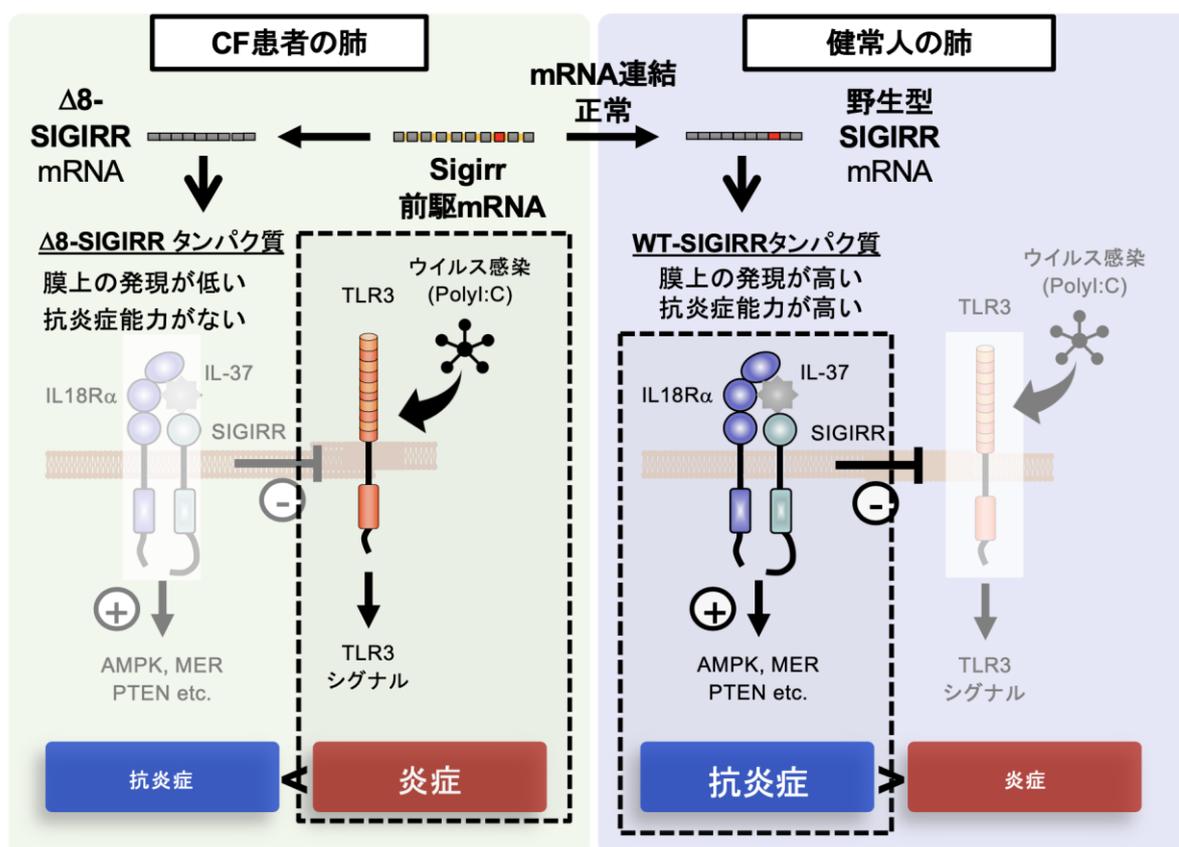


図1 研究の概要図

(概要図の説明)

正常な肺では、膜タンパク質SIGIRR(野生型、WT-SIGIRR)が、膜上に発現し、抗炎症能力を発揮し、ウイルス感染に伴う過剰炎症を抑制する働きがあります。一方、CFの肺では、SIGIRR遺伝子の連結異常(mRNAスプライシング異常)が生じ、その結果、抗炎症作用を持たない、異常SIGIRR(Δ 8-SIGIRR)が発現します。 Δ 8-SIGIRRは、膜上に発現できないことから、抗炎症能力がないので、ウイルス感染に伴う過剰炎症を抑制することができません。本成果により、CF患者において、なぜ、ウイルス感染によって過剰な炎症応答が起きるのか?についての詳細な機序が明らかになりました。

【研究の背景】

嚢胞性線維症(CF)は全身の上皮膜細胞に発現するイオンと水の輸送を調節するCFTR 遺伝子の変異により発症する遺伝性疾患です。CFTR の欠損または機能不全により細胞内外環境が著しく変化し、その患者の多くは慢性的な細菌・ウイルス気道感染による持続的な炎症と過剰な粘液貯留、およびこれらの症状に伴う気道閉塞を呈し、若年で呼吸不全により死に至ります。

これまで、特に、CF 患者においては、ウイルス感染などをきっかけとして過剰な炎症応答が起きることで、病態が悪化することが問題とされてきましたが、その詳細な機序は明らかではありませんでした。熊本大学の首藤准教授らは、抗炎症機能を持つ膜タンパク質SIGIRR に着目し、CF 気道上皮細胞における SIGIRR の発現や機能の調節機構に着目した研究を開始しました。

【研究の内容】

本研究では、最初に、CF が過剰な呼吸器炎症を起こす点に着眼し、正常または CF 由来気道上皮細胞における SIGIRR 発現とそのリガンド^{※2}である IL-37b の抗炎症作用に関して検討を行いました。正常および CF 気道上皮細胞株(C38 vs. IB3-1)における定常状態の SIGIRR 発現を比較したところ、CF 細胞株においては、SIGIRR タンパク質の細胞膜上発現が、正常細胞と比較し著しく低下していました(図2左上)。また、SIGIRR タンパク質の細胞膜上特異的な発現低下は、CF 由来初代培養気道上皮細胞においても認められました(NHBE vs. DHBE-CF)(図2右上)。興味深いことに、CF 細胞株におけるウイルス感染刺激によって引き起こされるサイトカイン IL-8 の産生は、SIGIRR リガンド IL-37b 処理により抑制できなかったことから、CF 細胞株では、SIGIRR 膜上発現量低下に伴う IL-37b 応答性の低下が引き起こされ、抗炎症作用が認められませんでした(図2下)。

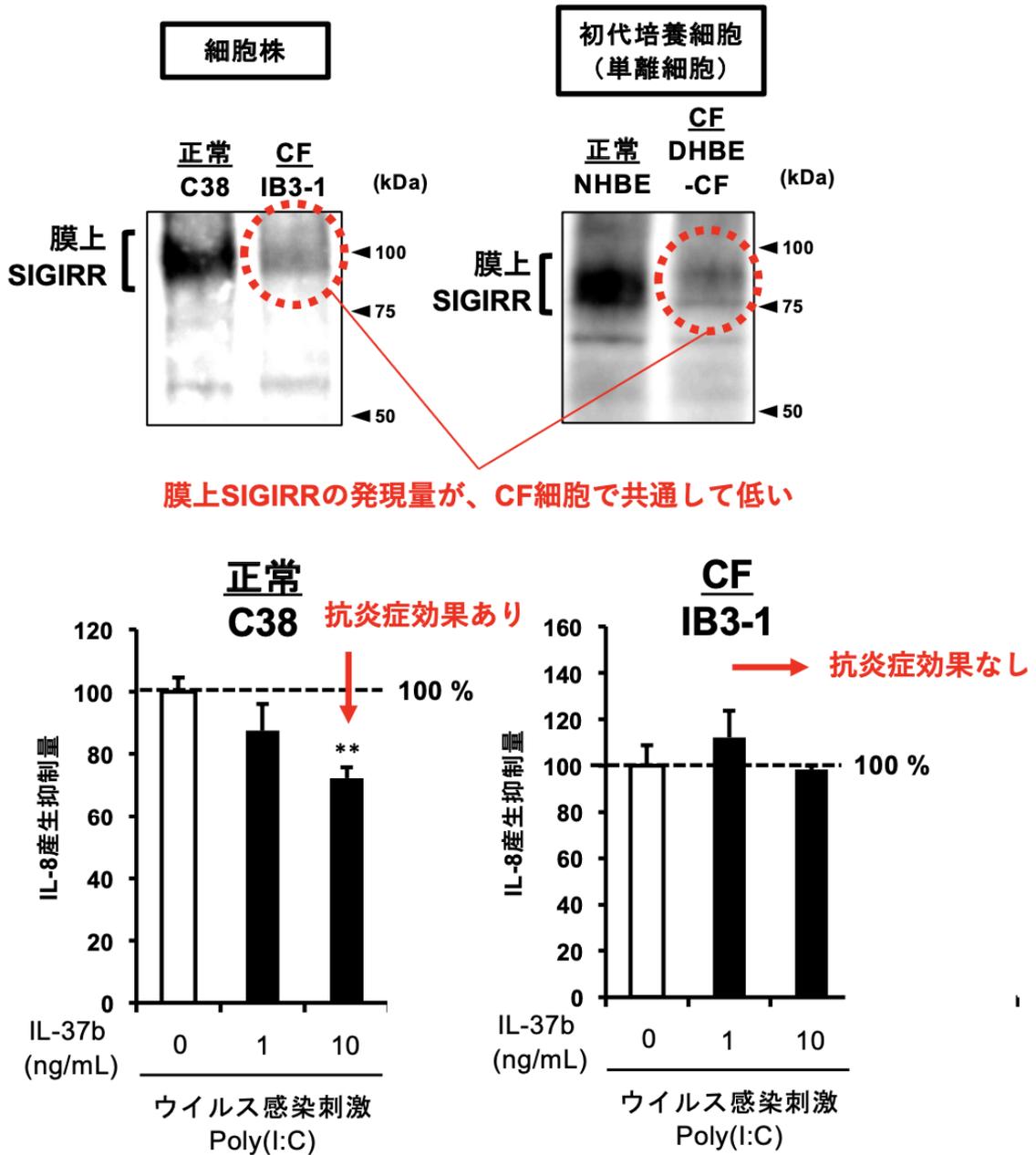


図2 CF細胞におけるSIGIRRの膜上発現量低下と抗炎症効果の低下

次に、CF 特異的な SIGIRR 膜上発現低下のメカニズムとその意義の解明を目的とし、種々の検討を行いました。まず、正常および CF 気道上皮細胞における SIGIRR タンパク質発現の詳細解析を行ったところ、CF 細胞では、糖鎖修飾を受けていない正常型 SIGIRR タンパク質よりも約 10 kDa 分子量が低い SIGIRR タンパク質 (low-SIGIRR) が多く発現していることが明らかになりました(図3左)。そこで、SIGIRR mRNA の発現パターン解析を行ったところ、CF 細胞では SIGIRR 遺伝子の特定の領域が脱落した異常な SIGIRR (Δ 8-SIGIRR) の発現量が高いことが明らかとなりました(図3右)。

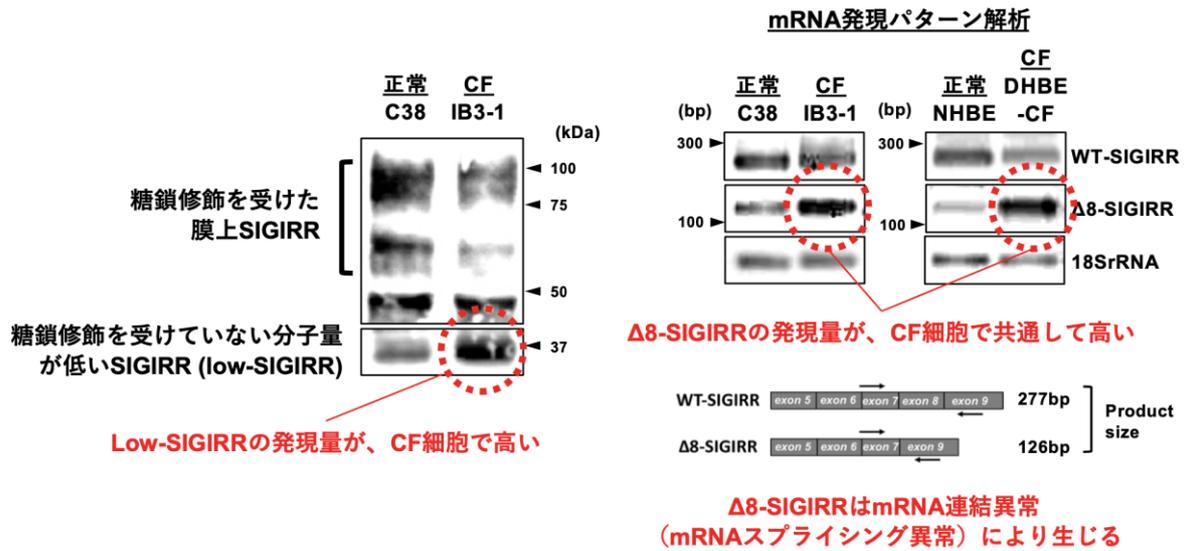


図3 CF細胞におけるΔ8-SIGIRRの発現上昇とmRNAスプライシング異常

最終的に、さまざまな検討の結果、1) Δ8-SIGIRR タンパク質は、CF 細胞に多く存在する low-SIGIRR タンパク質と同程度の分子量であること、2) Δ8-SIGIRR は、それ自身、細胞膜上に発現せず細胞内にとどまること、3) Δ8-SIGIRR の過剰発現は、正常型 SIGIRR の細胞膜上の発現量を低下させ、IL-37b による炎症抑制作用を阻害することが明らかになりました。これらの結果より、CF 特異的な SIGIRR 膜上発現の低下とそれに伴う炎症抑制性 IL-37b-SIGIRR 経路の破綻(減弱)に、Δ8-SIGIRR による WT-SIGIRR(野生型・正常な SIGIRR)発現・機能抑制作用が関与することが解明されました(図4)。本知見は、SIGIRR のスプライススイッチが CF 呼吸器炎症を増悪化することを示唆する初めての報告です。

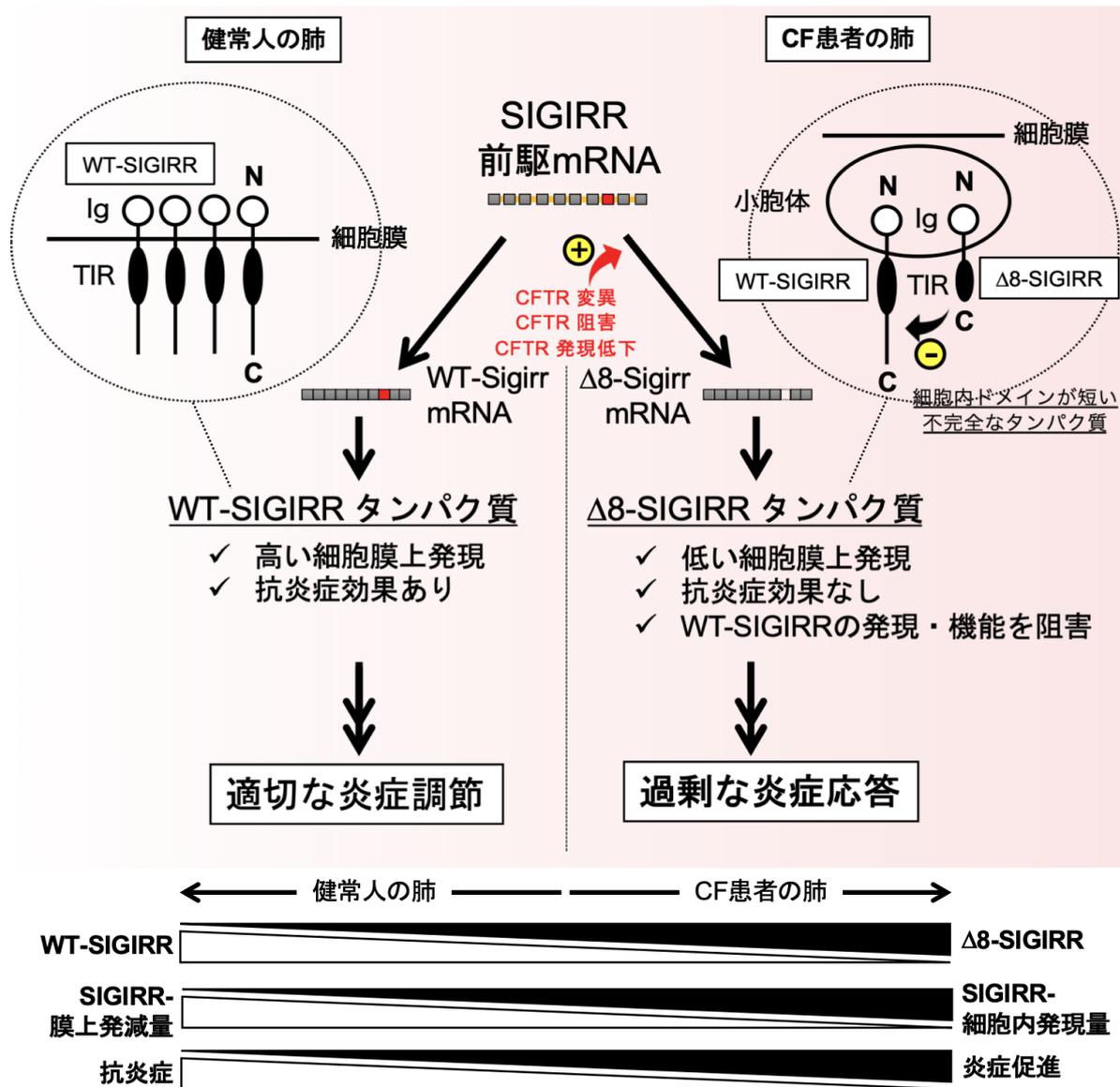


図4 野生型SIGIRR (WT-SIGIRR) から異常型SIGIRR (Δ8-SIGIRR) へのスプライススイッチがCF呼吸器炎症を増悪化する

なお、これまでも、熊本大学の首藤准教授らは、CF 特異的な mRNA スプライシング異常が、亜鉛輸送トランスポーター-Zip2 の mRNA の連結調節に影響し、粘液産生異常を引き起こすことも明らかにしてきました(Kamei S., et al., EBioMedicine. 2018) (図5)。したがって、本研究は、この成果と合わせて考えることで、世界的に有名な遺伝性疾患 CF の病態の根本的な理解につながる研究成果です。

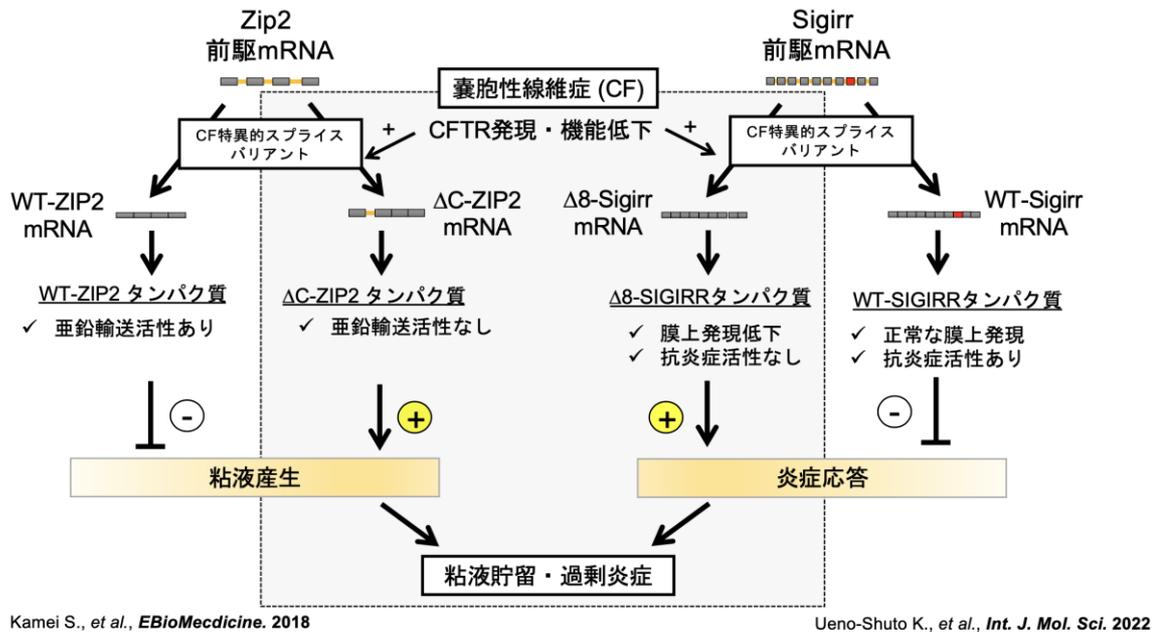


図5 ZIP2及びSIGIRRのCF特異的なスプライススイッチが肺病態を増悪化する

本研究は、文部科学省科研費 (JP 26860062、JP 16K08291、JP 19K07114、JP17H03570)、学術振興会特別研究員補助金(JP 15J09420)、熊本大学リーディング大学院 HIGO プログラムの支援を受けて行われました。

【用語解説】

※1 mRNA スプライシング異常: DNA 上の遺伝情報を転写した mRNA がタンパク質を合成する際に、通常は必要な部分だけがつなぎ合わせられ、それ以外の部分は除去(スプライシング)されるが、適切に除去されない異常。

※2 リガンド: 細胞の表面に存在する特定の受容体の特定部位に結合する物質。

【論文名】

A splice switch in SIGIRR causes a defect of IL-37-dependent anti-inflammatory activity in cystic fibrosis airway epithelial cells

【著者名・所属】

Keiko Ueno-Shuto¹, Shunsuke Kamei^{2,3,†}, Megumi Hayashi², Ayami Fukuyama², Yuji Uchida¹, Naofumi Tokutomi¹, Mary Ann Suico², Hirofumi Kai² and Tsuyoshi Shuto^{2,*}
(*責任著者)

所属:¹崇城大学薬学部薬理学教室、²熊本大学大学院生命科学研究部 遺伝子機能応用学分野、³現在の所属：熊本大学発生医学研究所 分子血管制御分野

【掲載雑誌】

International Journal of Molecular Sciences

【doi】

<https://doi.org/10.3390/ijms23147748>

【URL】

<https://www.mdpi.com/1422-0067/23/14/7748>

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部附属
グローバル天然物科学研究センター
大学院薬学教育部 遺伝子機能応用学研究室
担当: 首藤剛 (准教授)
電話: 096-371-4407
e-mail: tshuto@gpo.kumamoto-u.ac.jp