Research on regulatory mechanism of inflammation by HO-1 and development of novel anti-inflammatory threrapy

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2018-06-22
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: Yachie, Akihiro
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00051176

ヘムオキシゲナーゼ１による炎症制御機構の解析と新しい炎症治療戦略に関する研究

（研究課題番号　14570729）

平成 14 年度～平成 15 年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）
研 究 成 果 報 告 書

平成 16 年 3 月

研究代表者　谷内江　昭宏
（金沢大学医学部教授）

ヘムオキシゲナーゼ１による炎症制御機構の解析と新しい炎症治療戦略に関する研究

（研究課題番号　14570729）

平成 14 年度～平成 15 年度科学研究費補助金（基盤研究 C）
研 究 成 果 報 告 書

平成 16 年 3 月

研究代表者　谷内江　昭宏
（金沢大学医学部教授）

はしがき

疾患に対する分子生物学的アプローチ法が進歩するに伴い、多様な疾患の発症や病態に炎症を制御する遺伝子の変異や欠損が重要な役割を果たすことが理解されつつある。それに伴い、病原体の増殖に対する抗原特異的免疫応答、抗菌剤による制御という、単純な図式のみで感染症の病態を説明したり、治療方針を決定することが不適切と考えられてきている。感染症に伴う急激な炎症反応や、分子擬態による自己免疫様反応、病原体感染の関与が示唆される慢性炎症性疾患などの病態を説明するには、病原体自体の病原性、特異免疫応答の変容、自然免疫応答を含む生体防御機構の多様な階層に関わる分子の異常などを包括する、新しいパラダイムで理解することが求められて来ている。このように感染症病態理解が複雑化する一方で、難治性慢性疾患のかなりのものが感染と生体防御に関わる遺伝子異常により説明可能となり、病態に応じて多様かつ要点を得た治療的介入を行うことが可能となりつつある。

重症感染症やショック症候群など、強い生体反応を伴う急性炎症性疾患では単球活性化に伴うサイトカイン産生がショック症状や全身臓器傷害など、いわゆるマクロファージ活性化症候群と呼ばれる病態を惹起することが知られている。病原体の侵入に伴うこのような致死的な生体反応を防ぐためには、過剰な炎症反応を制御し、感染の終息に向かう免疫応答が正常に機能することが必要とされる。また種々の炎症性疾患では、組織や臓器にマクロファージが浸潤、これが病態形成に積極的に関与していることが想定されているが、一方でマクロファージ自身が炎症を制御する役割を果たしている可能性も示唆される。このような単球・マクロファージ由来の炎症制御因子として注目されるのが、ヘムオキシゲナーゼ1（HO-1）ならびにその代謝産物である。

HO-1 の産生は種々のストレス刺激により速やかに誘導されること、我々が報告した HO-1 欠損症では恒常的に強い炎症反応が観察されたことなどから、本酵素が単球を中心とした免疫応答の調節機構として決定的な働きをしている可能性が示唆される。また HO-1 遺伝子上流の promotor 領域にある GT くり返し配列の多型が HO-1 発現レベルと関連し種々の炎症性疾患の発症に関与している可能性が報告されている。このことは、HO-1 欠損例でなくても、HO-1 遺伝子あるいは promotor 領域の遺伝子多型により HO-1 発現の量的な変化が起こり、炎症病変の増悪に関与する可能性を示唆している。

本研究では末梢血単核球による HO-1 産生調節機構を解明し種々の炎症疾患の病態形成における HO-1 産生細胞の関与を明らかにすること、さらに HO-1 を利用した新たな炎症制御戦略の開発を目的として、種々の検討を行った。

今回の検討では、末梢血白血球の内、単球が HO-1 産生の主体であること、種々の急性炎症性疾患では単球の HO-1 産生が亢進することが示された。また、このような単球による HO-1 産生の亢進が種々の単球表面抗原発現の変化を伴う、単球活性化により誘導されることが示唆された。さらに、HO-1 産生が単球の一部の分画に選択的に認められることから、これらの単球亜群を標的として、抗炎症剤による治療戦略の開発をすすめることが可能であると考えられた。

研究組織

研究代表者　　谷内江　昭宏（金沢大学医学部教授）

研究経費

平成 14 年度：	2,100 千円
平成 15 年度：	1,900 千円
計	4,000 千円

研究発表

1）学会誌等

1. 谷内江昭宏　第105回日本小児科学会学術集会教育講演
   「ヘムオキシゲナーゼ1欠損症から学ぶもの」
   日本小児科学会雑誌　第106巻　第10号　1380-1389頁

2. 谷内江昭宏
   ヒトヘムオキシゲナーゼ1欠損症
   小児科臨床　第57巻　第3号　469頁

3. Hori R, Kashiba M, Toma T, Yachie A, Goda N, Makino N, Soejima A, Nagasawa T, Nakabayashi K, Suematsu M.
   Gene transfection of H25A mutant heme oxygenase-1 protects cells against hydroperoxide-induced cytotoxicity.
   J Biol Chem. 277:10712-8, 2002.

4. Jeney V, Balla J, Yachie A, Varga Z, Vercellotti GM, Eaton JW, Balla G.
   Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme.
   Blood　100:879-87, 2002.

5. Yachie A, Toma T, Shimura S, Yue L, Morimoto K, Maruhashi K, Niida Y, Ohta K, Kasahara Y, Saikawa Y, Koizumi S.
   Human heme oxygenase (HO)-1 deficiency and the oxidative injury of vascular endothelial cells.
   In Heme oxygenase in biology and medicine. Ed. by Abraham NG, Alam J, an Nath K. Kluwer Academic/Plenum Publishers New York, 2002, pp325-334.

6. Yachie A, Toma T, Mizuno K, Okamoto H, Shimura S, Ohta K, Kasahara Y, Koizumi S.
   Heme oxygenase-1 production by peripheral blood monocytes during acute inflammatory illnesses of children.
   Exp Biol Med (Maywood). 228: 550-6, 2003.

7. Balla J, Vercellotti GM, Nath K, Yachie A, Nagy E, Eaton JW, Balla G.
   Haem, haem oxygenase and ferritin in vascular endothelial cell injury.
   Nephrol Dial Transplant. Suppl 5:v8-12, 2003.

8. Yang Y, Ohta K, Shimizu M, Morimoto K, Goto C, Nakai A, Toma T, Kasahara Y, Yachie A, Seki H, Koizumi S.
   Selective protection of renal tubular epithelial cells by heme oxygenase (HO)-1 during stress-induced injury.
   Kidney Int. 64: 1302-9, 2003.

2）口頭発表等

1. 中村　奈美、丸箸　圭子、太田　邦雄、酒詰　忍、太田　和秀、笠原　善仁、谷内江昭宏、小泉　晶一、畑崎　喜芳、星野　修一
小児肺高血圧症のける肺組織 HO-1 産生の特徴
第 105 回に本小児科学会　2002 年 4 月　名古屋

2. 谷内江昭宏
ヒトヘムオキシゲナーゼ 1 欠損症から学ぶもの（教育講演）
第 105 回に本小児科学会　2002 年 4 月　名古屋

3. 太田　和秀、楊　永紅、清水　正樹、森本佳代子、中井　明子、東馬　智子、瀬野　晶子、笠原　善仁、谷内江昭宏、小泉　晶一
尿細管上皮細胞における heme oxygenase (HO)-1 の細胞防御機構
第 45 回日本腎臓病学会　2002 年 5 月　大阪

4. Yachie A, Toma T, Nakamura N, Ohta K, Morimoto K, Ohta K, Saikawa Y, Kasahara Y, Koizumi S
Heme oxygenase-1 deficiency; a disease of monocyte dysfunction.
2nd International Conference on HO/CO　2002 June Catania, Italy

5. Toma T, Maeba H, Nishimura R, Ohta K, Kasahara Y, Yachie A, Koizumi S
Heme oxygennase-1 production by peripheral blood monocytes in acute febrile illnesses.
2nd International Conference on HO/CO　2002 June Catania, Italy

6. Nakamura N, Toma T Ohta K, Sakazume S, Ohta K, Kasahara Y, Yachie A, Koizumi S
Characteristics of heme oxygenase-1 production within the lung tissue in childhood pulmonary hypertension.
2nd International Conference on HO/CO　2002 June Catania, Italy

7. Ohta K, Yang Y, Shimizu M, Toma T, Kasahara Y Yachie A, Koizumi S
Selecetive protection of renal tubular epithelial cells by heme oxygenase-1 during stress-induced injury.
2nd International Conference on HO/CO　2002 June Catania, Italy

8. 楊　永紅、太田　和秀、森本佳代子、清水　正樹、中井　明子、東馬　智子、瀬野　晶子、笠原　善仁、谷内江昭宏、小泉　晶一
腎炎・腎症の増悪阻止因子としての heme oxygenase-1 (HO-1)
第 37 回日本小児腎臓病学会　2002 年 7 月　神戸

9. 東馬　智子、谷内江昭宏、水野　和徳、岡本　浩之、笠原　善仁、小泉　晶一
急性炎症性疾患における単球活性化抗原発現とヘムオキシゲナーゼ（HO）-1 産生の特徴
第 32 回日本免疫学会　2002 年　12 月　東京

10. 笠原　善仁、東馬　智子、水野　和徳、谷内江昭宏、小泉　晶一
小児感染症における単球活性化とヘムオキシゲナーゼ 1 産生
北陸腸内細菌研究会　2003 年　7 月　富山

11. 水野　和徳、東馬　智子、岡本　浩之、笠原　善仁、小泉　晶一、谷内江昭宏
インフルエンザ急性期における単球 CCR2 発現とサイトカイン産生
第 35 回日本小児感染症学会　2003 年　11 月　富山

研究成果

本研究結果の概要を以下に記す。詳細は後に添付する学会誌等発表論文の別冊を参照されたい。

1）末梢血単核球による HO-1 産生：末梢血単核球は種々のストレス刺戟によりすみやかに HO-1 を産生した。その産生は mRNA 発現誘導を伴うものであり、de novo の産生であると考えられた。免疫染色、フローサイトメトリー、単離した細胞集団の RT-PCR など、多様な検討により、HO-1 産生は単球のみに誘導されることが明らかにされた（学会誌等別冊 6）。リンパ球各亜群ではほとんど HO-1 産生は確認されなかった。

2）培養腎尿細管上皮細胞、メサンギウム細胞を用いた検討では、尿細管上皮細胞に選択的に強い HO-1 産生が誘導された。また、H_2O_2 を用いた細胞傷害誘導では、尿細管上皮細胞のみが HO-1 依存性の細胞傷害を示した（別冊 8）。

3）LCL を用いた検討では、HO-1 欠損細胞株は酸化ストレス刺戟により容易に細胞死が誘導された。このような細胞傷害は HO-1 遺伝子導入により正常 HO-1 を恒常的に発現させることにより回避された（別冊 5、6）。

4）腫瘍細胞株を用いた遺伝子導入による検討では、HO-1 の恒常的発現により認められる細胞傷害抑制効果は、過剰発現によりむしろ消失、細胞傷害が促進される場合があることが示された（別冊 5）

5）高濃度ヘムは血管内皮傷害と関連することが示された（別冊 4、7）。

6）急性炎症性疾患においては、単球表面抗原 CD16 ならびに HLA-DR の発現が増強、寛解と共にこれらの変化は正常化した。このような単球表面抗原の変化に伴い、末梢血単球は有意な HO-1 産生を示した。特に、著明な血管傷害と強い炎症を特徴とする川崎病や、急激なサイトカイン産生により高熱と全身症状を示すインフルエンザ感染症では HO-1 産生の著しい高値が認められた（別冊 6）。

7）先天性心疾患に伴う肺高血圧症では、肺胞マクロファージの HO-1 産生が増強、その程度は肺高血圧の程度と相関を示した（投稿中）。

8）川崎病患者と正常対照との比較では HO-1 promotor 領域の GT repeats 数の分布に有意な差は認められなかった。このことから、少なくとも川崎病の発症に HO-1 産生の多寡が関与している可能性は少ないと考えられた（投稿中）。さらに、合併する血管病変の重症化に GT repeat 多型が関連する可能性について、引き続き検討中である。

以上、種々の炎症病態に単球の HO-1 産生が重要な制御機構を提供している可能性が示唆された。さらに、予備的検討では、このような単球による HO-1 産生は特定の単球亜群により担われている可能性が示唆されている。また、HO-1 産生レベルは生体内での細胞の局在や、それにより規定される生理的ストレスの多少のみでなく、細胞の由来によりあらかじめ規定されている可能性が示された。このような差は、ストレス下での細胞傷害保護における HO-1 の意義が細胞種毎に異なることを示している。

これらの結果から、単球を標的とした治療的介入により、多様な血管病変の進展を抑制することが予想された。さらに、このような HO-1 による細胞傷害抑制効果には用量依存性があり、長期にわたる過剰発現がむしろ細胞傷害を増強する可能性も示唆された。このことは、HO-1 発現誘導を目的とした抗炎症治療を行う場合に、発現調節機構の有無が重要な要素となることを示している。