新しい炎症抑制機構の発見とそれを応用した病態治療法の開発

村田幸久（東京大学大学院農学生命科学研究科）
amurata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

はじめに

炎症反応は、生体に侵入してきた異物の排除し、損傷をうけた組織の修復と機能回復を担う最も重要な生体防御機構である。先天的もしくは後天的に起こる様々な要因により炎症反応が正常に機能しないと、感染が拡大したり傷害からの治癒不全が起こる。反対に、炎症反応が過度になり慢性化すると自己の組織を損傷し、がん化や自己免疫疾患といった多くの炎症関連疾患の発症につながる。このため、これらの病態を治療するためには、炎症反応を正と負の両方向に制御する機構を解明して制御することで、両者のバランスを整える必要がある。

プロスタグランジン（PG）類は炎症反応において中心的役割を果たす脂質メディエーターであり、主要なものとして PGE_2、PGF_2、PGI_2 やトロンボキサン A_2（TXA_2）が知られている。これまでの研究からこれらの PG 類は血圧から、体温、痛みを調節して炎症反応を促進する作用をもつことが分かっている。

本研究では、がんや肺炎、アレルギーの疾患モデルを用いて、PGD_2 と呼ばれる PG の１つが、強力な炎症“抑制”作用をもつことを発見した。また、PGD_2 受容体シグナルの強化が、これらの炎症性疾患の治療につながることをマウスレベルの実験で明らかにした。

各項目について以下に記述する。

1. PGD_2 は癌の増殖を抑える

がんは日本人の死因 1 位を占める重篤な疾患である。本項目では PGD_2 が癌の増殖に与える影響を評価した。

マウスの皮下に肺癌を移植して癌増殖モデルを作成し、癌組織に産生されている脂質分子を質量分析装置により網羅的に解析した。その結果、上に記述した PGE_2 や TXA_2 に加えて、PGD_2 が大量に産生されていることを発見した。

PGD_2 の癌増殖における役割を明らかにする目的で、PGD_2 合成酵素の遺伝子欠損マウス (H-PGDS KO) を作成して実験に用いた。その結果、H-PGDS KO マウスに肺癌を移植すると正常マウス (WT) の約 2 倍の速度で癌が成長することが分かった（図１）。病理学的・分子生物学的な手法を用いて解析をおこなったところ、①癌組織に浸潤してくる肥満細胞が H-PGDS を強く発現していること、②H-PGDS KO マウスで増殖した癌では炎症細胞の浸潤が増えて血管の透過性が異常に亢進しており、新生血管が増えることで癌細胞への酸素・栄養供給が増加していることが分かった。合成酵素の欠損マウスと同様に、PGD_2 の受容体（DP）欠損マウスにおいても癌の血管が漏れやすくその成長も早いことが分かった。

上記の結果から、PGD_2-DP シグナルの増強が癌増殖の抑制につながる可能性が考えられた。それを検証する目的で DP 受容体刺激薬をマウスに連日投与したところ、移植癌における血管透過性と癌増殖の両方が強力に抑えられ、マウスの寿命を延ばすことに成功した。(引用文献 6, 7, 9, 11)

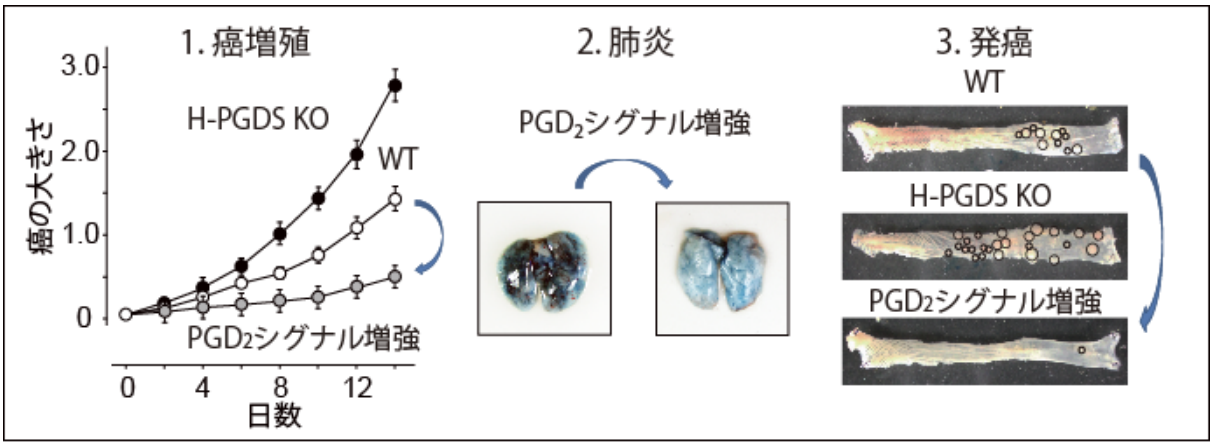
2. PGD_2 は組織の炎症とそれに続く発癌を抑制する

本項目では PGD_2 が肺や腸の炎症とがん化に与える影響を評価した。

マウスの気管内に菌体成分であるリポポリサッカライドを投与すると、急性肺炎の症状が表れる。H-PGDS KO ではこの肺炎の症状が WT に比較して劇的に悪化することが分かった（図 2：炎症により血管透過性が異常上昇し、青い色素が漏出している）。さらに、H-PGDS KO マウスではドデシル硫酸ナトリウムの投与による大腸炎の症状も WT マウスと比較して悪化し、それに伴って大腸の発癌数が増加することが分かった（図 3：○は癌を示す）。

免疫染色や細胞特異的な H-PGDS 欠損マウスを作成・応用することで、炎症を起こした肺においては組織に浸潤してくるマクロファージが、腸においては肥満細胞と呼ばれる免疫細胞が PGD_2 を主に産生し、炎症を抑制していることが分かった。

PGD_2 の受容体である DP の作動薬を連日投与すると、肺炎や腸炎が治るとともに大腸癌の発生率も劇的に低下することが分かった。（引用文献 1, 2, 3, 5）



3. PGD_2 が食物アレルギーの症状発現を抑えることを発見

人々の生活の現代化はアレルギー疾患を急増させており、大きな社会問題となっている。食物アレルギーは小さな子供に多い疾患であるが、的確な診断方法と治療方法が無く、それぞれの開発が急務である。PGD_2 はアレルギー反応を起こした組織中に大量に産生されることが報告されているが、その生理作用は不明であった。本項目では PGD_2 の食物アレルギー症状に与える影響を評価した。

卵白アルブミンをマウスに複数回投与すると、食物アレルギーの症状（下痢や粘膜紅潮、不動等）が観察される。この食物アレルギー症状を H-PGDS の遺伝子欠損は劇的に悪化させることが分かった。病理学的な解析と細胞特異的な H-PGDS 欠損マウスを用いた検討から、腸管に存在する肥満細胞が主な PGD_2 産生細胞であり、その欠損は肥満細胞自身の腸管への浸潤数を劇的に増加させることで、食物アレルギーの症状を悪化させることが分かった。

また、DP 受容体刺激薬の連続投与により、腸管の肥満細胞数を減らして根本的にアレルギー症状を抑制することに成功した。

食物アレルギーは急性蕁麻疹との類症鑑別が難しく、その 8 割程度が誤診であることが報告されており、治療が進まない大きな要因となっている。つまり、食物アレルギーの治療には簡便かつ特異的な病態マーカーの探索が必須である。我々は、マウスの尿を対象とした脂質分子の網羅的解析を行うことで食物アレルギーマーカーの探索を行った。その結果、PGD_2 代謝産物が安定

的にマウスの尿中に排泄され、食物アレルギーの症状や腸管の肥満細胞数に比例してその排泄量が上昇することが分かった。肥満細胞のみを特異的にヒト化したマウスを用いた検討においても同様に、肥満細胞数や食物アレルギーの症状に比例した尿中 PGD_2 代謝産物の濃度上昇が観察された。つまり、尿中 PGD_2 代謝産物は優れた食物アレルギーマーカーである可能性が示された。（引用文献 12, 13）

まとめ

癌や肺炎、食物アレルギーにおいて組織に浸潤してくる肥満細胞やマクロファージが産生する脂質メディエーターである PGD_2 が、DP 受容体の刺激を介して血管透過性や炎症細胞の浸潤を抑える作用を持つことを発見した。これを応用して、DP 受容体刺激がこれらの炎症性疾患の治療に応用できることを証明した。また、尿中に排泄される PGD_2 代謝産物が食物アレルギーの病態マーカーとして有用であることを発見した。

今後の抱負

本研究では、新しい炎症抑制物質を同定してその癌や肺炎、腸炎、食物アレルギーに対する治療応用に成功した。しかしこれらの結果は、マウスの病態モデルを用いて得られたものである。ヒトや他の動物種への治療応用には、種差、加齢、既往歴など炎症バランスを変化させる多くの要因を考慮にいれて検討を進めていく必要がある。この問題を 1 つずつクリアすべく、現在我々は肥満細胞など特定の細胞をヒト化したモデルマウスを作製して試薬の評価に応用したり、実際のヒト患者やイヌの尿を用いた病態マーカー探索を開始している。

農学、動物学、獣医学の特徴は他の分野にない多様性である。今後も動物種間に見られる違いや相同性を常に見極め、それを応用しながら医学や薬学には無い切り口をもって研究を進めていきたい。

謝辞

本賞の受賞におきましては、東京大学大学院農学生命科学研究科より推薦をいただきました。古谷研研究科長はじめ関係する先生方や日頃御協力いただいている事務職員の方々に厚く御礼申し上げます。

本研究を進める上で多大なご指導・御支援をいただいた共同研究者の先生方、裏出良博教授（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）、有竹浩介准教授（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）、中村正孝教授（東京医科歯科大学医学部）、成宮周教授（京都大学医学部）、William C. Sessa 教授（Yale University, School of Medicine）、尾崎博教授（東京大学大学院農学生命科学研究科）に感謝申し上げます。

本研究は主に、東京大学大学院農学生命科学研究科・応用動物科学専攻・放射線動物科学教室および獣医学専攻・獣医薬理学教室において実施したものです。研究の遂行に関わった中村達朗特任助教、前田真吾特任助教、綾部信也君、丸山智晴君、貴田大樹君、岩永剛一君、壷阪義記君、小林幸司君、更級葉菜さん、佐藤可奈子さん、澤田慧さん、大森啓介君、前原都有子さん、芦名功平君に感謝申し上げます。

最後に、本研究で犠牲になった多くの動物達に心から感謝するとともに、その霊が慰められるよう心よりお祈りいたします。

関連する文献と知的財産権

注：責任著者を*で示す。

1. Iwanaga K, Nakamura T, Maeda S, Aritake K, Hori M, Urade Y, Ozaki H, *Murata T. 2014. Mast cell-derived prostaglandin D_2 inhibits colitis and colitis-associated colon cancer in mice. *Cancer Res*. 74(11):3011-9.
2. Kobayashi K, Sato K, Kida T, Omori K, Hori M, Ozaki H, *Murata T. 2014. SDF-1α-CXCR4 Axis Promotes Endothelial Cell Barrier Integrity via PI3kinase and Rac1 activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 34(8):1716-22.
3. Sarashina H, Tsubosaka Y, Omori K, Aritake K, Nakagawa T, Hori M, Hirai H, Nakamura M, Narumiya S, Urade Y, Ozaki H, *Murata T. 2014. Opposing immunomodulatory roles of prostaglandin D_2 during the progression of skin inflammation. *J Immunol*. 192(1):459-65.
4. Kida T, Tsubosaka Y, Hori M, Ozaki H, *Murata T. 2013. Bile Acid Receptor TGR5 Agonism Induces NO Production and Reduces Monocyte Adhesion in Vascular Endothelial Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 33(7):1663-9.
5. *Murata T, Aritake K, Tsubosaka Y, Maruyama T, Nakagawa T, Hori M, Hirai H, Nakamura M, Narumiya S, Urade Y, Ozaki H. 2013. Anti-inflammatory role of PGD_2 in acute lung inflammation and therapeutic application of its signal enhancement. *Proc Natl Acad Sci U S A*.26;110(13):5205-10.
6. Kobayashi K, Tsubosaka Y, Hori M, Narumiya S, Ozaki H, *Murata T. 2013. Prostaglandin D_2-DP Signaling Promotes Endothelial Barrier Function via the cAMP/PKA/Tiam1/Rac1 Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33(3):565-71.
7. *Murata T, Aritake K, Matsumoto S, Kamauchi S, Nakagawa T, Hori M, Momotani E, Urade Y, Ozaki H. 2011. Prostagladin D_2 is a mast cell-derived antiangiogenic factor in lung carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108(49):19802-7.
8. Ayabe S, *Murata T, Maruyama T, Hori M, and Ozaki H. Prostaglandin E_2 induces contraction of liver myofibroblasts by activating EP3 and FP prostanoid receptors. *Br J Pharmacol* 156(5):835-45. 2009.
9. *Murata T, Lin MI, Aritake K, Matsumoto S, Narumiya S, Ozaki H, Urade Y, Hori M, and Sessa WC. Role of prostaglandin D_2 receptor DP as a suppressor of tumor hyperpermeability and angiogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:20009-20014. 2008.
10. *Murata T, Lin MI, Huang Y, Yu J, Bauer PM, Giordano FJ, and Sessa WC. Reexpression of caveolin-1 in endothelium rescues the vascular, cardiac, and pulmonary defects in global caveolin-1 knockout mice. *J Exp Med* 204:2373-2382. 2007.
11. 特許：「血管新生促進剤」村田幸久、裏出良博、有竹浩介・東京大学・特願 2009-247492・PCT/JP2010/069040
12. 特許:「アレルギー抑制剤」村田幸久、中村達朗、裏出良博、有竹浩介・東京大学・米 61/772689
13. 特許：「食物アレルギーの検査方法及び検査用キット」村田幸久、中村達朗、前田真吾・東京大学・特願 T0529AGP07