

受賞者

渡邊 智裕

京都大学大学院医学研究科 消化器内科学

研究テーマ

クローン病感受性蛋白質NOD2の活性化による腸管免疫制御機構の解析

1. はじめに

腸管には多種多様な腸内細菌が存在する。本来異物である腸内細菌は免疫反応を起こすことなく、我々の腸管と共生している。つまり、健常な腸管においては、腸内細菌に対する免疫応答を抑制するシステムが存在する。健常腸管において存在する免疫制御機構が破綻することにより、クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患が発症することがわかっている。樹状細胞などの抗原提示細胞に発現するNOD2は腸内細菌由来抗原であるMuramyl Dipeptide (MDP)を認識する細胞内受容体として同定され、Toll-like receptor (TLR)と共に自然免疫反応の一翼を担っている。NOD2の生理的な機能に関してはほとんどわかっていないが、NOD2変異がクローン病を引き起こすことから、NOD2の機能の解明は基礎的にも臨床的にも極めて重要である。基礎的にはMDPによるNOD2の活性化の機能の解析により腸管免疫の恒常性の一端を明らかにできると思われる。臨床的には、NOD2の機能の解明によりクローン病の病態生理が明らかになるだけでなく、新規治療法の開発につながる可能性がある。受賞者である渡邊智裕はNOD2変異がクローン病を引き起こす機序を精力的に解析し、MDPによるNOD2の活性化がTLR2を介する自然免疫反応を負に制御することにより、腸管免疫の恒常性を維持していること、クローン病関連型NOD2変異の存在下ではTLR2を介する炎症反応が亢進するために腸炎が惹起されることを明らかにした(文献1、2参照)。このように受賞者の成果はNOD2がTLR2の負の制御因子として機能していることを証明したものであり、NOD2変異の存在下でのクローン病の発症機序に関して、大きな進歩をもたらしたと考えられている。しかしながら、クローン病の発症にはTLR2だけではなく、多くのTLR経路の活性化が必要であることが示唆されており(文献3参照)、受賞者による今までの成果ではその機序を完全に説明できない。そこで、受賞者はMDPによるNOD2の活性化がTLRだけではなく、多くのTLR経路を抑制するのではないかと想定し、本研究を計画した。

2. 方法

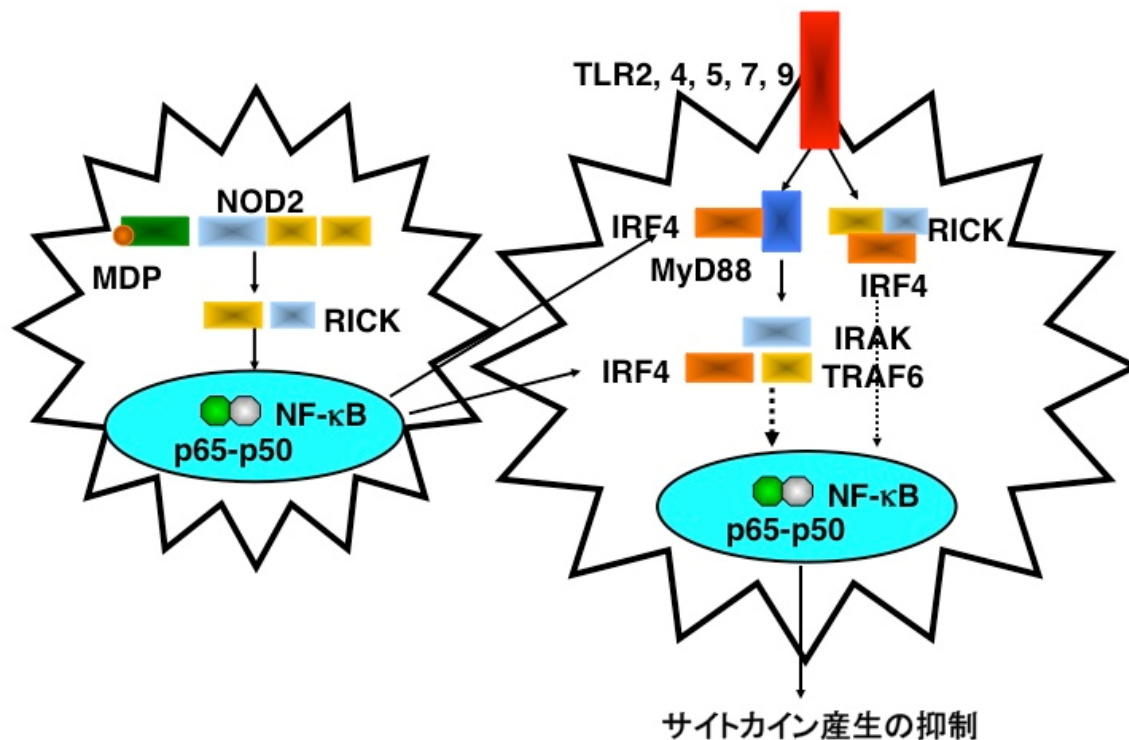
以下の2つの実験を行った。

1) In Vitro Study; NOD2によるMDPの活性化によりほぼ全てのTLR経路が抑制されること、MDP刺激によるNOD2の活性化はTLR経路の負の制御因子であるIRF4の発現を増加させることを受賞者はすでに見出している。そこで、NOD2によるTLR経路への抑制機構がIRF4依存性であるかどうかをヒト樹状細胞を用いて検討した。ヒト樹状細胞にIRF4siRNAを導入し、IRF4の発現を低下させ、NOD2の前刺激によるTLR経路を介したサイトカインの産生の抑制効果が消失するかどうか検討した。

2) NOD2の活性化によるマウス腸炎抑制効果の検討; この実験においては、NOD2 ligandであるMDPを投与されたマウスが腸炎の誘導に抵抗性であるかどうかを検討した。用いるモデルは急性腸炎モデルであるDSS腸炎とTNBS腸炎である。マウスの体重測定と組織学的な解析を通して、NOD2の活性化が腸炎の発症を予防し得るかどうかを検討した。また、腸管組織におけるTLR経路の活性化の状態を解析した。

3. 結果 研究成果

NOD2の活性化によるTLR経路の抑制はIRF4に依存する (図1)



本研究の結果を以下にまとめた。

- 1) MDPでNOD2を活性化された樹状細胞では引き続きTLR2, 3, 4, 5, 9 ligandsで刺激しても、NF-κBの核内移行が起こらず、炎症性サイトカインの産生が抑制される。
- 2) 1)の分子機序はNOD2の活性化で誘導されたIRF4がTLR経路シグナル伝達分子であるMyD88, TRAF6, RICKと結合し、NF-κBの活性化を防止するためである (上記図1参照)。
- 3) MDPを予め投与されたマウスは急性腸炎の発症が予防され、MDPを投与されたマウスの腸管組織においては、TLRの活性化が抑制されている。
- 4) MDPによる腸炎の抑制効果はIRF4に依存する。

4. 考察 まとめ

今回の検討により、予めNOD2を活性化された樹状細胞では引き続きTLR ligandsで刺激した際に、炎症性サイトカインの産生が著明に減少することが判明した。この分子機序としては、NOD2の活性化により誘導されたIRF4がTLRのシグナル伝達分子に結合することによりTLR経路を阻害するためであることがわかった。さらに、より重要なこととして、MDPによるNOD2の活性化はTLR2のみだけではなく、多くのTLR経路を抑制することが明らかになった。大腸炎モデルの検討においては、MDPの投与により、DSS及びTNBS腸炎の発症がほぼ完全に抑制され、MDPを投与されたマウスにおいては腸管組織において、TLRを介する炎症反応が減少していた。これらのIn Vitro及びIn Vivoの検討から、MDPによるNOD2の活性化はTLRを介する炎症反応を抑制することにより、腸管免疫の恒常性を維持し、腸炎の発症を抑制することが示唆された。

本研究の成果から、MDP投与によるNOD2の活性化を用いたクローン病の新たな治療法の開発が期待される。しかしながら、本研究の成果は急性腸炎における予防効果に限られており、クローン病治療への臨床応用を念頭にいた場合、慢性腸炎モデルでの治療効果の判定が必須である。今後は慢性腸炎モデルにおいて、MDP投与によるNOD2の活性化が腸炎を抑制するかどうかを検討したい。

5. 参考文献

- 1) Watanabe T, et al. NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type1 responses. *Nature Immunology* 2004;5:800-8.
- 2) Watanabe T, et al. Nucleotide Binding Oligomerization Domain 2 Deficiency Leads to Dysregulated TLR2 Signaling and Induction of Antigen-Specific Colitis. *Immunity* 2006;25:473-85.
- 3) Strober W, et al Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nature Reviews Immunology* 2006;6:9-20.