

アストロサイト STAT3 活性化の新機構解明

九州大学大学院薬学研究院 ライフィノベーション分野

白鳥 美穂

研究計画の項目ごとに報告する。

①アストロサイトSTAT3活性化に関与するカルシウムシグナル関連分子の特定

①-1. サイトカインによる細胞内カルシウムイオン濃度増加メカニズム

初代培養アストロサイトに、カルシウム動態関連分子であり、小胞体からのカルシウム放出に重要なIP3受容体の阻害薬を処置したところ、IL-6によるSTAT3活性化が抑制された。そこで、関与するサブタイプをより詳細に明らかにするために、アストロサイトに発現するIP3受容体サブタイプをRT-PCR法で検討し、発現が認められたIP3R1とIP3R2の2種類のサブタイプに対するsiRNAを処置した。その結果、IP3R1のsiRNAによってIL-6によるSTAT3活性化が抑制された。

次に、IP3受容体を起点として細胞膜上のカルシウムチャネルが開閉し持続的なカルシウム流入が起こる‘ストア作動性カルシウム流入’に関わる分子の関与を検討した。IP3受容体活性化による小胞体のカルシウム濃度低下を感知するSTIMに関して、2種類のサブタイプのsiRNAを処置したところ、STIM2のsiRNAによってIL-6によるSTAT3活性化が抑制された。また、STIMの活性化の後に持続的なカルシウム流入を担うOrai/TRPCチャネルの関与も同様に検討したところ、複数のOrai/TRPCチャネルの関与が確認された。

さらに、カルシウムイメージング法を用いてIL-6によるアストロサイトのカルシウム濃度変化を検討したところ、持続的なカルシウム応答が認められた。この応答は、IP3受容体やTRPCチャネルの阻害薬や、IP3R1のsiRNAで抑制された。

これらの結果から、IP3R1-STIM2-Orai/TRPCを構成要素とする持続的なカルシウム流入が、IL-6によるSTAT3の持続的な活性化を引き起こしていることが示唆された。

①-2. 細胞内カルシウムイオン濃度増加によるSTAT3活性化メカニズム

STAT3の活性化にはチロシン残基のリン酸化が必要であることから、JAK以外の非受容体型チロシンキナーゼの関与を想定し、検討を行ったところ、ある種の非受容体型チロシンキナーゼの阻害薬及びsiRNAでIL-6によるSTAT3活性化が抑制された。また、IL-6により当該チロシンキナーゼの活性化が認められ、その活性化はTRPCチャネルの阻害薬で抑制された。

以上の結果から、IL-6によってIP3R1-STIM2-Orai/TRPCを構成要素とする持続的なカルシウム流入依存的にJAK以外の非受容体型チロシンキナーゼが活性化し、STAT3の活性化に関与することが示唆された。

②カルシウムシグナル依存的なアストロサイトSTAT3活性化の病態における役割

アストロサイト選択的にIP3R1のshRNAを発現するアデノ随伴ウイルスベクターを作成し、マウスの脊髄後角に微量注入後、慢性搔痒モデルを作成した。その結果、慢性的な痒み行動や、アストロサイトSTAT3依存的に発現増加する因子LCN2の発現が抑制された。

以上、本研究結果から、①で特定したIP3R1を起点とする一連のカルシウムシグナルが、慢性搔痒時の脊髄後角アストロサイトSTAT3活性化に関わり、慢性的な痒み行動に影響を与えることがわかった。