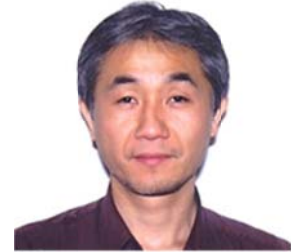


miRNAによる自然免疫制御機構の解明

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 血管代謝病態解析学分野
鹿児島大学病院臨床検査部 山口 宗一



【研究目的】

感染防御に働く単球・マクロファージ、樹状細胞などは、体内に侵入した細菌やウイルスを感知してその排除するいわゆる炎症反応を引き起こす。この自然免疫系は、細菌などの共通の分子構造である pathogen-associated molecular patterns(PAMPs)を認識して細胞内のシグナル伝達系を活性化する。この Toll-like receptor (TLR)など一連のパターン認識受容体を介したシグナルに関しては、多くの知見が得られているが未だ全容は解明されていない。感染を制御する分子群の一つとして、マイクロ RNA (miRNA) があげられる。近年はマイクロ RNA (miRNA) の細胞機能調節分子としての役割が様々な生理的、病的状態において明らかにされてきた。特に、がん関連 miRNA は Onco-miR と呼ばれ、悪性細胞の増殖能、転移能は特定の miRNA の存在に依存しており、これら miRNA の薬理的な不活性化は治療補助となり得る可能性が提唱されている。感染においても、miRNA の重要性は研究されており、例えば miR-150 の発現低下が細菌感染、炎症と関連があることが報告されている。また、miRNA は 20 塩基程度の単鎖 RNA であるが、血中にも安定して存在し、circulating miRNA として疾患のバイオマーカーになり得ることが考えられている。この多くの血中 miRNA の安定性の理由がエクソソームという分泌小胞に包まれて存在することである事実が認識されてから、エクソソーム内在の miRNA がバイオマーカーのみならず「細胞間コミュニケーション」ツールとして注目されている。

今回われわれは、自然免疫制御機構、特に細菌感染に関与する miRNA を検討することにより、miRNA による細菌感染の細胞応答、細胞間の miRNA 伝達についての治験を深めることを目的として研究を行った。

【研究方法】

上記目的のために、(1) 細菌感染によるマクロファージ系細胞の miRNA の役割、(2) 単球系細胞が放出した miRNA の血管内皮細胞の取り込み、そして (3) 血小板 miRNA について検討した。

【研究結果】

(1) レジオネラ属菌は主にマクロファージなどの細胞内で増殖するグラム陰性の細菌で、重

篤なレジオネラ肺炎を惹き起こす日和見感染菌である。PMA 刺激で分化した U937 細胞にレジオネラが感染すると、少なくとも MOI>50 では細胞死が誘導される。また、種々のサイトカインの発現が増加する。レジオネラを感染させた U937 細胞で、細胞死を誘導しない MOI において miR-218 の発現が増加していた。miR-218 の宿主遺伝子の一つ SLIT3 の mRNA 発現も濃度依存性に増加していた。miR-218 はその標的遺伝子の一つ Rictor の発現を制御する。レジオネラが感染して miR-218 が増加した U937 細胞では Rictor の発現が低下した。

- (2) 単球系細胞株の THP-1 細胞を LPS で刺激してその培養上清中のエクソソームを超遠心で回収すると、そのエクソソーム中の miRNA が増加することを確認した。回収したエクソソームを培養血管内皮細胞 HUVEC のメディアムに添加すると、エクソソームに内在する miRNA が HUVEC に移行した。また、transwell を使って、THP-1 細胞と HUVEC を共培養すると、THP-1 細胞から HUVEC への miRNA の移行が見られた。
- (3) 血小板中の miRNA はその種類により量的違いが見られた。また、血小板中の miR-126 はいずれの患者でも高濃度で存在し、血小板中の miR-126 は患者により異なること、状態変化により変動することが確認できた。血清、血漿中の miR-126 も測定し、血小板の miR-126 との相関を調べたが、いずれも相関は見られなかった。

【考 察】

レジオネラによるマクロファージ系細胞への感染をモデルとして、細菌感染時に miRNA が変化して細胞内のシグナルを変化させる現象を示した。特に、レジオネラ感染で増加する miR-218 に注目して、miR-218 による細胞内シグナル分子の変化について検討した。この miR-218 の変化がマクロファージのサイトカイン分泌、細胞遊走能などへ影響を及ぼすのか、今後検討していく。感染による炎症は、サイトカインによる周辺への炎症伝播、増幅のみならず、エクソソームによる周辺組織への直接の働きかけ、炎症の拡散が想定される。今回は、単球系細胞の LPS 刺激によりエクソソームが分泌されることを示した。今後も感染防御という新しい概念を miRNA でひも解いていく予定である。

【学術推進プロジェクトについて】

日本臨床検査医学会の学術推進プロジェクトに採択して頂きありがとうございました。学術推進とのことで、試行錯誤をさせていただきましました。基礎的な予備実験を繰り返すことが多く、実験の方向性やデータの安定性を得るまでに相当な時間がかかってしまい、2年という時間を経てようやくプロジェクトの出発点に立てたような気がしております。まだまだ、解明すべき点は残しておりますが、これからの研究の推進力となりました。これからも、このプロジェクトが完結するように努力邁進していく所存です。支援していただいた学術推進プロジェクトの今後の発展のためにも、プロジェクトが臨床検査医学に少しでも貢献できるような形で更なる研究成果を報告できるようにいたします。今後ともよろしくお願いたします。