

受賞対象論文

Sakaguchi M, Yamamoto M, Miyai M, Maeda T, Hiruma J, Murata H, Kinoshita R, Ruma IM, Putranto EW, Inoue Y, Morizane S, Huh NH, Tsuboi R, Hibino T : Identification of an S100A8 receptor neuroplastin- β and its heterodimer formation with EMMPRIN. *J Invest Dermatol* (2016) 136, 2240.

阪口 政清

Masakiyo Sakaguchi

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生物学

Department of Cell Biology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences



<プロフィール>

昭和47年生まれ

平成7年3月 徳島文理大学薬学部卒業

平成13年3月 岡山大学医学系大学院博士課程修了

平成13年4月 岡山大学医学部 細胞生物学 日本学術振興会特別研究員 (PD)

平成16年6月 岡山大学大学院医歯学総合研究科 助手

平成17年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 助手

平成19年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 助教

平成20年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授

平成26年1月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 独立准教授

研究の背景と経緯

乾癬，アトピー性皮膚炎は，ともに世界中での患者数が年々増加している難治性皮膚炎症性疾患である。これらの発症には，遺伝的背景と環境要因の関与が指摘され，感染，紫外線，機械的刺激，ストレスなどが直接の契機になると考えられているが，依然として病因は不明である。また，乾癬の中でも膿疱性乾癬は，皮膚に炎症性膿疱が現われ，全身症状として高熱や倦怠感を伴う重篤な病状を呈するため難病にまで指定されている。これら炎症性疾患の外観，痛み，かゆみなどその病状は，患者さんにとって大きな苦痛となるため治療が必要とされるが，その制御には今なお困難を伴っている。このように乾癬，アトピー性皮膚炎の制御法の開発は，増加傾向にある患者さんにとって大きな意義を有する緊急の課題となっている。

我々は，これら疾患の皮膚炎症機転で中心的な役割を担う分子として，S100A8/A9複合体タンパク質に着目し，研究を進めてきた。その背景には，我々のこれまでの研究成果，(1) S100A8/A9は乾癬患部で過剰発現していること¹⁾，(2) S100A8/A9は分泌されて細胞増殖，炎症性サイトカインの産生誘導に働くこと²⁾，(3) 炎症性サイトカイン誘導には，既知のS100A8/

A9受容体 RAGE^{3,4,5)} 以外に，新規 S100A8/A9受容体 EMMPRIN が重大な役割を担っていること⁶⁾，等がある。

上記これまでの成果，より，S100A8/A9-表皮角化細胞新規受容体 EMMPRIN の信号伝達が，乾癬およびアトピー性皮膚炎発症とこれら病状悪化に非常に重要な役割を示すことがわかって来た。ここで1つの疑問を持つに至った。皮膚表皮角化細胞におけるS100A8/A9の受容体は EMMPRIN のみなのかというものである。EMMPRIIN は，S100A8/A9複合体のS100A9側に親和性を示すため，S100A8側に親和性を示すまだ未知な受容体がさらに存在するものと考えたのだ。従って当研究では，S100A8/A9の作用点として働く EMMPRIN 以外のまだ未知な受容体の同定を目指し，これら分子群の相互作用 (リガンド-受容体) の乾癬，アトピー性皮膚炎における機能的役割を解明に努めた。

研究成果の内容

1. S100A8/A9受容体の探索

日比野利彦先生 (東京医科大学皮膚科学分野) との共同研究により見出した S100A8/A9 の新規受容体 EMMPRIN (S100A9側に親和性を示す) の構造に着目

し、ドメイン別にホモロジー検索することで、EMMPRIN 細胞質領域と一次構造が極めて類似した一回膜貫通型膜タンパク質 NPTN を発見することができた。NPTN には、2つのアイソタイプ (α と β) が存在しており、NPTN β が、皮膚表皮角化細胞に発現が顕著である事を突き止めた。

2. NPTN, EMMPRIN と S100A8/A9の結合

各S100タンパク質 (S100A4, A7, A8, A9, A11, B) を強制発現させた HEK293細胞より培養上清 (分泌されたS100タンパク質を含有) をそれぞれ回収し、受容体群 (RAGE, EMMPRIN, NPTN α , NPTN β) を強制発現させた HEK293細胞の培養系に添加した。細胞を回収し、強制発現させた受容体群の免疫沈降の後に、結合性S100タンパク質群を Western Blot により解析した。その結果、NPTN α ではなくNPTN β の方がS100A8に対する強い親和性を示すことが判明した。

3. NPTN と EMMPRIN の 2量体形成

次に我々は、RAGE, NPTN α , NPTN β , EMMPRIN の4者間で、どのような2量体形成が起こるのかについて検討した。HEK293細胞にEMMPRIN+ (RAGE or NPTN α or NPTN β or EMMPRIN) のコンビネーションで各二種類の受容体ペアを強制発現させた。NPTN α + (RAGE or NPTN α or NPTN β or EMMPRIN), NPTN β + (RAGE or NPTN α or NPTN β or EMMPRIN) に関しても上記と同様に行った。当検討から、各受容体 (NPTN α , NPTN β , EMMPRIN) の免疫沈降の結果、NPTN α , NPTN β , EMMPRIN はそれぞれホモダイマー形性能 (NPTN α /NPTN α , NPTN β /NPTN β , EMMPRIN/EMMPRIN) があること、そして、NPTN α /NPTN β , NPTN α /EMMPRIN, NPTN β /EMMPRIN のヘテロダイマー形成も可能であることが判明した。また、NPTN α , NPTN β , EMMPRIN はいずれも RAGE との結合性を示さなかった。

4. NPTN, EMMPRIN の下流信号伝達とそれらの皮膚炎症病態における意義

NPTN β とEMMPRINの細胞質領域には、共通して TRAF 結合モチーフが存在する。一方、NPTN β にのみ PxxP モチーフが認められた。細胞質領域に TRAF アダプタータンパク質を直接トラップする受容体は、炎症性サイトカイン誘導に関わるものが多い。また、PxxP モチーフは SH3 ドメインを持つアダプタータンパク質を引き寄せ、増殖に関わることが知られている。そこで、NPTN β とEMMPRINの細胞質領域への代表

的アダプタータンパク質の結合能を検討した。NPTN β あるいはEMMPRINの細胞質領域と各アダプタータンパク質 (TRAF2, GRB2, CRK, NCK1, NCK2) あるいはp38リン酸化酵素をHEK293に同時トランスフェクションし、NPTN β あるいはEMMPRINの細胞質領域を免疫沈降した。結合性アダプタータンパク質をWBにより解析したところ、EMMPRINにはTRAF2のみが、NPTN β には、TRAF2とGRB2が結合性を示すことが判明した。TRAF2はNF κ B活性を上昇させ、炎症性サイトカイン誘導に関わり、GRB2はMAPKの活性化を促し、細胞増殖の促進に関わる。このことより、EMMPRINとNPTN β は相互にS100A8/A9の信号を使い分ける重要な受容体であることが判明した(図)。当データは乾癬、アトピーのマウスモデル、そして実際の疾患皮膚サンプルからも確認でき、S100A8/A9-EMMPRIN/NPTN β 受容体軸の乾癬、アトピーの発症とその後の増悪過程への重要性を強く認識することができたのである。

研究成果の意義

我々の基礎研究から得られた成果を基に、S100A8/A9-EMMPRIN/NPTN β 経路の阻害製剤が開発できれば、未だ対症療法しかない乾癬、アトピー性皮膚炎の治療にとって、発症の予防や根本的治癒を可能にするイノベーションに繋がるものと期待される。乾癬、アトピー性皮膚炎は皮膚科領域において世界的にその原因究明が待たれている病気であり、疾患の病因究明・治療に結びつけば、国際競争力を高めることは間違いない。炎症増悪の負のフィードバックを効率的かつ持続的に遮断するため、治療時間の軽減や痛み、かゆみの等の負担の軽減(QOLの改善)にもつながり、治療成績が格段に向上するものと考えられる。

今後の展開や展望

S100A8/A9の関わる疾患は、乾癬のみならず、炎症の関わる神経変性疾患、2型糖尿病性、自己免疫疾患、がんなど、広範にわたる。本研究を基盤に現在開発中にあるS100A8/A9-EMMPRIN/NPTN β 経路の阻害製剤は、これらの広範な炎症性疾患に対する共通の対策を提供することになり、臨床応用展開への貢献度は非常に大きいものと考えられる。

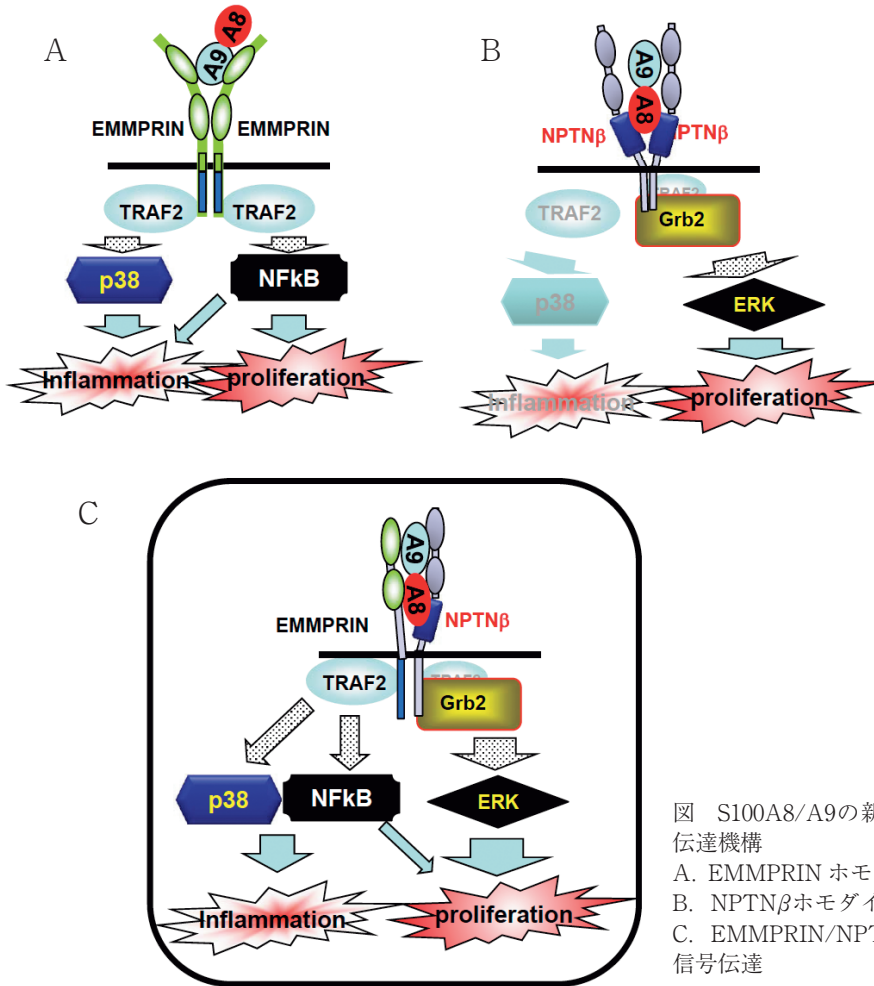


図 S100A8/A9の新規受容体を介した信号伝達機構
 A. EMMPRIN ホモダイマーの下流信号伝達
 B. NPTNβホモダイマー下流信号伝達
 C. EMMPRIN/NPTNβヘテロダイマー下流信号伝達

文 献

- 1) Aochi S, Tsuji K, Sakaguchi M, Huh NH, Tsuda T, et al. : Markedly elevated serum levels of calcium-binding S100A8/A9 proteins in psoriatic arthritis are due to activated monocytes/macrophages. *J Am Acad Dermatol* (2011) 64, 879-887.
- 2) Nukui T, Ehama R, Sakaguchi M, Sonogawa H, Katagiri C, et al. : S100A8/A9, a key mediator for positive feedback growth stimulation of normal human keratinocytes. *J Cell Biochem* (2008) 104, 453-464.
- 3) Sakaguchi M, Murata M, Yamamoto K, Ono T, Sakaguchi Y, et al. : TIRAP, an Adaptor Protein for TLR2/4, Transduces a signal from RAGE Phosphorylated upon Ligand Binding. *PLoS ONE* (2011) 6, e23132.
- 4) Sakaguchi M, Murata H, Aoyama Y, Hibino T, Putranto EW, et al. : DNAX-Activating Protein 10 (DAP10)

Membrane Adaptor Associates with Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) and Modulates the RAGE-triggered Signaling Pathway in Human Keratinocytes. *J Biol Chem* (2014) 289, 23389-23402.

- 5) Ichiki T, Koga T, Okuno T, Saeki K, Yamamoto Y, et al. : Modulation of leukotriene B4 receptor 1 signaling by receptor for advanced glycation end products (RAGE). *FASEB J* (2016) 30, 1811-1822.
- 6) Hibino T, Sakaguchi M, Miyamoto S, Yamamoto M, Motoyama A, et al. : S100A9 is a novel ligand of EMMPRIN that promotes melanoma metastasis. *Cancer Res* (2013) 73, 172-183.

平成29年3月29日受稿
 〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
 電話：086-235-7395 FAX：086-235-7400
 E-mail：masa-s@md.okayama-u.ac.jp