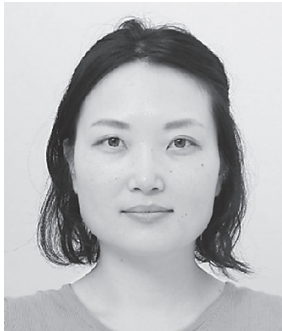


受賞対象論文

Katsuyama E, Yan M, Watanabe KS, Matsushima S, Yamamura Y, Hiramatsu S, Ohashi K, Watanabe H, Katsuyama T, Zeggari S, Yoshida N, Moulton VR, Tsokos GC, Sada KE, Wada J : Downregulation of miR-200a-3p, Targeting CtBP2 Complex, Is Involved in the Hypoproduction of IL-2 in Systemic Lupus Erythematosus-Derived T Cells. *J Immunol* (2017) 198, 4268-4276.

勝山 恵理

Eri Katsuyama



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

Department of Nephrology, Rheumatology, Endocrinology and Metabolism, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<プロフィール>

昭和57年生まれ

平成19年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成19年4月 呉共済病院 初期研修医

平成21年4月 産業医科大学病院 膠原病リウマチ内科 専門修練医

平成23年4月 岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 医員

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学

平成28年6月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了

平成29年9月 Division of Rheumatology, Harvard Medical School, Beth Israel Deaconess Medical Center, Postdoctoral fellow
現在に至る

研究の背景と意義

全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE)は、異常な自己免疫性リンパ球による多彩なサイトカインや自己抗体の産生の結果、中枢神経、肺、心、腎、関節や皮膚など全身の臓器に障害を引き起こす自己免疫性疾患の一つである。SLEの病因として、一卵性双生児におけるSLEの発症一致率は25~45%程度である^{1,2)}ことから、先天的な要因のみならずその後の遺伝子制御が深く関係していると考えられる。

このような後天的な遺伝子発現の制御システムとして、ホルモン、薬物など環境因子のほか、マイクロRNAをはじめとするエピジェネティクス制御(後天的遺伝子制御)機構が知られる。マイクロRNAは、DNAメチル化、ヒストン修飾とならぶエピジェネティクス制御の一つである。21-25塩基長で、自身はノンコーディングRNAであるが、ターゲットのメッセンジャーRNAの3'非翻訳領域(3'UTR)の相補的配列に結合し、その安定性や蛋白への翻訳を阻害することで遺伝子発現を抑制する³⁾。血清や尿の他、種々の細胞由来のマイクロRNAが報告されており、癌や感染症などの疾患、細胞の分化・発達など様々なステップを修飾するとされる。

マイクロRNAはSLEにおいても、病態形成やバイ

オマーカーとして重要である。そこで本研究ではSLEに強く関係するマイクロRNAを同定すべく網羅的な解析を行った。

研究成果の内容

本研究では、SLE類似症状を呈す代表的なモデルマウス(MRL/MpJ-Tnfrsf6^{pr}/CrJ: MRL/lprマウス)と、その対象群としての健常マウス(C57BL/6J: B6マウス)のCD4陽性T細胞由来からRNAを抽出し、次世代シーケンサーHiSeqを用いてRNAシーケンズ解析を行った。今回はMRL/lprマウスにて発現が有意に低下していたマイクロRNAのうちmiR-200a-3pに注目し、そのメッセンジャーRNA(mRNA)が再現性をもって発現が低下していることを確認した。また、同解析におけるmiR-200a-3pの標的遺伝子として候補にあがった転写因子であるCtBP2(C-terminal binding protein 2)、ZEB1、ZEB2(zinc finger E-box protein 1または2)に注目した。

SLE病態では刺激後のインターロイキン2(IL-2)産生能が低下している^{4,5)}。IL-2は、IL-2を必須とする制御性T細胞を含む細胞の維持・分化に重要なサイトカインであり⁶⁻⁸⁾、その欠損により強い自己免疫応答を示す。そのためIL-2の低産生性はSLEの病態の一

つとして知られている。更に、ZEB1はIL-2のプロモーター領域に結合し、その転写を抑制する⁹⁾という既報に基づき、我々はmiR-200a-3pはZEB1に加えZEB2、CtBP2を介してSLEのIL-2低産生性の機序を担っているのではないかと考えた。そこで、SLEモデルマウスとマウスT細胞株を使用し、miR-200a-3p、ZEB1/ZEB2/CtBP2、IL-2の関連を示すための実験を行った。

まず、マウスのT細胞株であるEL4細胞にmiR-200a-3p mimicを遺伝子導入することによりを過剰発現させると、ZEB1、ZEB2、CtBP2のmRNAの発現は低下し、IL-2の産生はmRNA、蛋白レベルとも上昇した。また、ルシフェラーゼアッセイによるIL-2のプロモーター活性も上昇しており、miR-200a-3pを過剰発現させるとIL-2の発現が上昇することを確認した。さらにZEB1のIL-2遺伝子への結合配列を用いてゲルシフトアッセイを行ったところ、miR-200a-3pの過剰発現によってZEB1、CtBP2の同配列への結合量が低下していた。最後に、PMA/イオノマイシン刺激後のこれら転写因子のIL-2遺伝子上の結合動態をクロマチン免疫沈降法にて確認したところ、miR-200a-3p発現が低下しているMRL/lprマウス由来CD4陽性T細胞では、ZEB1とCtBP2が健常マウスと比較して長時間結合しており、miR-200a-3pの低下により抑制性転写因子のIL-2遺伝子上への結合が維持されること

で、刺激後のIL-2産生が低下していることが示唆された(図)。

研究成果の意義と今後の展望

SLEの後天的遺伝子制御、またIL-2の産生能低下についての機序についてはまだ不明な部分が多い。今回、その一端としてmiR-200a-3pによるIL-2制御を明らかにした。IL-2補充療法はすでに臨床治験が試みられていることから¹⁰⁾、IL-2産生の機序を解明することはSLEの治療の選択肢を広げうるものと考ええる。また、マイクロRNAはバイオマーカー、さらには治療としても応用がすすんでおり、今後miR-200a-3pを含めたマイクロRNAがSLEの活動性指標や治療に有用な可能性がある。

文 献

- 1) Sullivan KE : Genetics of systemic lupus erythematosus. Clinical implications. Rheum Dis Clin North Am (2000) 26, 229-256, v-vi.
- 2) Moser KL, Kelly JA, Lessard CJ, Harley JB : Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus. Genes Immun (2009) 10, 373-379.
- 3) Hedrich CM, Tsokos GC : Epigenetic mechanisms in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. Trends Mol Med (2011) 17, 714-724.
- 4) Alcocer-Varela J, Alarcón-Segovia D : Decreased production

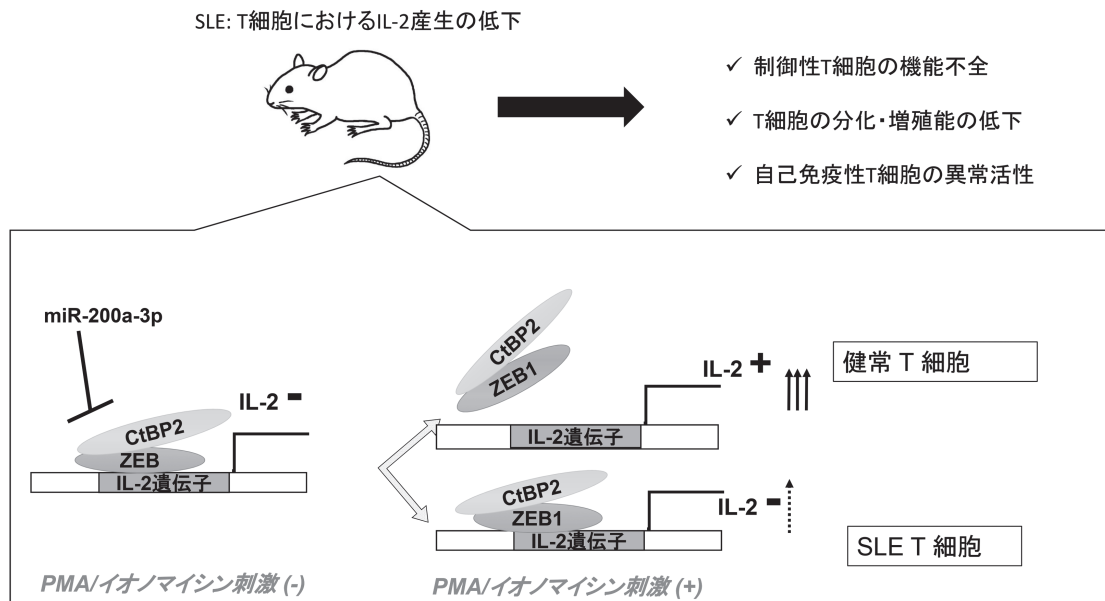


図 CtBP2複合体を介したmiR-200a-3pによるIL-2の産生制御

- of and response to interleukin-2 by cultured lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* (1982) 69, 1388-1392.
- 5) Dauphinée MJ, Kipper SB, Wofsy D, Talal N : Interleukin 2 deficiency is a common feature of autoimmune mice. *J Immunol* (1981) 127, 2483-2487.
- 6) Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY : A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol* (2005) 6, 1142-1151.
- 7) Boyman O, Sprent J : The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol* (2012) 12, 180-190.
- 8) Liao W, Lin JX, Leonard WJ : Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity* (2013) 38, 13-25.
- 9) Williams TM, Moolten D, Burlein J, Romano J, Bhaerman R, et al. : Identification of a zinc finger protein that inhibits IL-2 gene expression. *Science* (1991) 254, 1791-1794.
- 10) He J, Zhang X, Wei Y, Sun X, Chen Y, et al. : Low-dose interleukin-2 treatment selectively modulates CD4 (+) T cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *Nat Med* (2016) 22, 991-993.

平成31年1月4日受稿
〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
電話：086-235-7234 FAX：086-222-5214
E-mail：eri.katsu412@gmail.com