

アポトーシスを鍵に、関節リウマチの発症メカニズムを探る

長田重一

大阪大学大学院医学系研究科の長田重一教授らは、遺伝子操作したマウスから、関節リウマチが免疫細胞の1つであるマクロファージの機能不全で起こることを明らかにした。根本的な治療法がない関節リウマチの治療薬の開発に1つの扉を開く、この研究成果は、2006年のNature10月26日号で発表された¹。長田教授に研究の経緯や意義、今後の展望などについて話を聞いた。

一連のアポトーシス研究から、新しいモデルマウスが誕生

Nature Digest — 今回、関節リウマチの原因に迫る発見をされましたが、どのような研究だったのでしょうか？

長田 — 関節リウマチ^{*1}は日本人の約0.6%、欧米では約1%に発症する比較的多い病気ですが、その原因はよくわかっていません。自己免疫疾患だろうといわれていますが、ウイルスやバクテリアが原因という説もあり、はっきりしていません。それが今回、関節リウマチとよく似た症状の出るマウスを作ることになり、そのマウスの遺伝子の研究から、DNAの分解異常が関係しているという強い証拠が出てきました。

ND — そのマウスの作製や遺伝子の分析は、どのような経緯でなされたのでしょうか？

長田 — このマウスは、私たちがテーマとしているアポトーシス^{*2}の研究から出てきたものです。アポトーシスは「細胞の自殺」「細胞の自然死」などとよばれますが、細胞が死んだ後は、免疫細胞の1つであるマクロファージ（貪食細胞）が死んだ細胞を飲み込んで処理するのが一般的なルートです。その際、マクロファージに存在するDNA分解酵素(DNase II)が大きな役割を果たしています。

ND — 赤血球の脱核^{*3}に関係していることを明らかにされた酵素ですね。

長田 — そうです。DNase II遺伝子をノックアウトしたマウスを作製したところ、このマウスでは赤血球が少なくなり、そのまま胎内で死亡しました。胎児の造血組織である肝臓には未分解のDNAを抱え込んだマクロファージが大量に存在し、赤血球の分化過程で脱核した核はマクロファージによって取り込まれた後、DNase IIによって分解されることがわかりました²。さらに調べると、このノックアウトマウスにおいては、DNAを蓄積したマクロファージがI型IFN（インターフェロン）を発現していることを見いだしました³。このことから、I型IFNの毒性によって胎児が死滅したと推測されました。

そこで、DNase IIとI型IFN受容体の両者をノックアウトしたマウスを作製しました。すると、予想通り、こんどは正常に生まれてきました。ところが、このダブルノックアウトマウスでは、生後2~3か月目からヒトの関節リウマチとよく似た関節炎を起こしたのです（図1）。

ND — しばらく飼育をしてみて、初めて異常がわかったのですね。

長田 — はい。次に、DNase II遺伝子を薬剤で誘導的に欠損さ

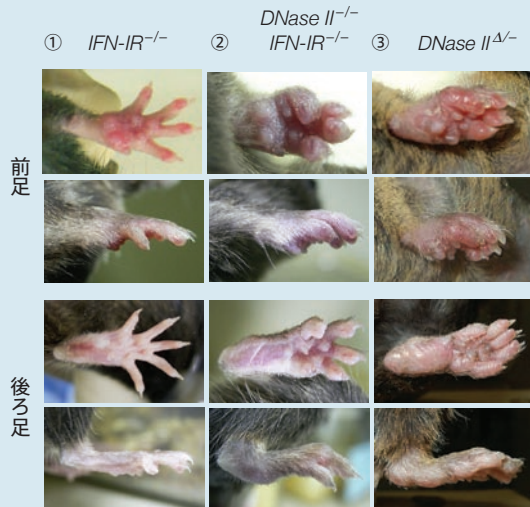


図1：左から、コントロール群としてのI型IFN受容体ノックアウトマウス（1）、DNase IIとI型IFN受容体のダブルノックアウトマウス（2）、生後にDNase IIをノックアウトするコンディショナルノックアウトマウス（3）の前足（上段）と後ろ足（下段）の写真。2と3では、いずれも関節リウマチ様の関節炎が起きており、腫れている。

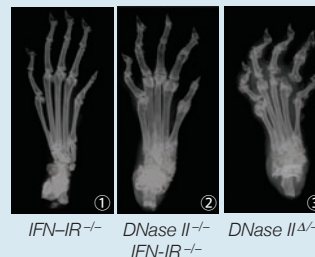


図2：図1と同じ各マウスの後ろ足のX線写真。2と3では、骨の変形や骨折がみられるが、特に3は変形が激しい。



長田重一（ながた・しげかず）／大阪大学大学院医学系研究科遺伝学教室および生命機能研究科時空生物学教室教授。理学博士。1949年、石川県生まれ。1972年、東京大学理学部卒業、1977年、東京大学大学院理学系研究科博士課程修了。その後、チューリッヒ大学分子生物学研究所研究員、東京大学医科学研究所助手、大阪バイオサイエンス研究所分子生物学研究部部長を経て、1997年より現職。専門は生化学・分子生物学で、アポトーシス研究の第一人者。2001年、文化功労者に選ばれた。

チューリッヒ大学時代、ヒトインターフェロン α 遺伝子のクローニングに世界で初めて成功。その後、東京

大学では顆粒細胞コロニー刺激因子（G-CSF）遺伝子をクローニングし、白血球を増加させるG-CSFの薬剤化につなげた。さらに、大阪バイオサイエンス研究所ではアポトーシスを誘導するFasリガンドを同定し、Fasリガンドやその受容体Fasの異常がリンパ球の腫大化、がん化、自己免疫疾患をもたらすことを示した。ついで大阪大学で、アポトーシスではまず死ぬ細胞内でCAD（caspase-activated DNase）がDNAを分解し、死細胞がマクロファージに貪食された後、リソソームにあるDNase IIがさらにDNAを分解すること、またこの貪食のメカニズムが赤血球の脱核化にも働くことを解明した。ホームページは <http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/genetic/>

せることができるようにしたコンディショナルノックアウトマウスを樹立しました。生後4週後、このマウスにpoly IC（2本鎖RNA）を投与すると、約2週間後にDNase II遺伝子が消失します。このマウスでも、マクロファージ中にアポトーシスを起こした細胞や赤血球の核DNAが残ります。そして、このマクロファージは腫瘍壊死因子（TNF）を発現していることがわかりました。TNFは関節リウマチの炎症を起こす物質の1つです。実際、このマウスも薬剤処理後2～3か月目から、指先、手首や足首、肘・膝の順番にリウマチ様の関節炎を起こし、生後8か月目には関節炎は全身に及びました（図1）。X線検査では関節の変形や骨折もあり、軟骨が破壊されているようすもみられました（図2）。この2種類のマウスは、両方ともほぼ同じ時間経過で関節リウマチ様の関節炎を起こしており、DNase II遺伝子の欠損が関節リウマチと関係していることが示唆されます。

ND — これらのマウスは症状以外にも、ヒトの関節リウマチとの類似点はあったのでしょうか？

長田 — 関節炎を起こしたマウスでは、ヒトの関節リウマチの診断に使われる血液中のリウマチ因子やマトリックスメタロプロテアーゼ（細胞表面構造の代謝に関与する物質で、関節の破壊の有無をみるマーカー）の濃度が高くなり、さらに関節部では炎症反応を示すTNF、インターロイキン6やインターロイキン1 β というサイトカインの遺伝子が発現していました。また、ヒトの関節リウマチの治療薬である抗TNF抗体には関節炎の予防、治療効果がありました。すなわち、まだ関節炎を発症していない時期に、抗TNF抗体をこれらのノックアウトマウスに投与すると関節炎になりませんでした。また、関節炎を発症してから抗TNF抗体を投与すると、関節の腫れが減り、また関節でのTNFやIL-6などのサイトカイン遺伝子の発現量も減少しました。

ヒトの関節リウマチにも同じメカニズムがあるか検証したい

ND — 今後はどのようなことを研究されるのでしょうか？

長田 — 今回の研究では、アポトーシス細胞や赤血球核のDNAが分解されずにマクロファージに残るとマクロファージが活性化され、そこから分泌されるTNFが関節炎を引き起こすことが明らかになりました。今までも関節リウマチのモデルマウスはあったのですが、関節リウマチが自然免疫の活性化で起こる可能性を示唆するモデルマウスは、これが初めてといえます。このメカニズムと同じことがヒトの関節リウマ

チでも起こっているかどうかを調べなければなりません。今後、臨床医とともに研究できればと思っています。そのうえで、このマウスをリウマチのよい薬の開発ツールとして使ってもらえればと考えています。

ND — これまでもアポトーシスの研究から、赤血球脱核の仕組みだけでなく、白内障や腎炎の発症のメカニズムも解明されています。先生の研究室からこのようなインパクトのある研究成果が出る理由は何でしょうか？

長田 — もちろん、すべての研究がうまく行くわけはありません。例えば、前述のDNase II遺伝子のノックアウトマウスが胎児のまま死んでしまったときには、実験が進まず、途方に暮れました。このように説明できない、理解できないことが起こったときにこそ、なぜかと疑問をもつことが大切です。生化学を研究してきて、*in vivo*で起こっていることは、*in vivo*にもどして実証できるはずだという信念があり、生化学に立ち戻って考え直すのです。そして、日常の地道な研究を続けて、1ミリでも2ミリでも進むことで、新しい発見が生まれると感じています。また、ほかの研究分野の専門家と話すこともいい刺激になります。わからないことがあったとき、すぐに聞ける友人のいることが研究にとっても役立っています。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は、小島あゆみ（サイエンスライター）。

*1 関節リウマチ

関節の滑膜（関節のふくろを作るものの1つ）が炎症を起こし、手足の指、膝などの関節がこわばり、痛みや変形を伴う。心臓、肺、血管、皮膚などにも病変が及ぶことがある。根本的な治療法がなく、対症療法が行われている。国内の患者数は推定70万人にのぼるといわれている。かつては「慢性関節リウマチ」とよばれていたが、最近「関節リウマチ」に変更された。

*2 アポトーシス

細胞の自然死。細胞の自殺ともよばれる。がん細胞の除去、発育過程での個体の形成などに欠かせない、個体の恒常性に保つためのシステム。実際は、ある細胞が機能的には死ぬほうがよい場合に、その細胞自体がT細胞やマクロファージのような免疫細胞に殺してくれるように依頼するシグナルを送っている場合が多い。

*3 赤血球の脱核

血液中で酸素を運ぶ役割をする赤血球は、血液中で唯一核をもたない。骨髄の造血幹細胞由来の赤血球前駆細胞の最終分化過程で、細胞膜に包まれた核が網状赤血球と分離し、マクロファージにより貪食される。長田教授らの研究は、この貪食過程にはアポトーシス細胞の貪食と同等のメカニズムが作用していることを示唆している。

1. Kawane K. et al, *Nature* **443**, 998-1002 (2006)
2. Yoshida H. et al, *Nature* **437**, 754-758, (2005)
3. Yoshida H. et al, *Nature Immunol.* **6**(1): 49-56 (2005)