

134. Pin1 を介した潰瘍性大腸炎発症機構の解明

中津 祐介

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 医化学講座

Key words : 潰瘍性大腸炎, Pin1, KO マウス

緒言

潰瘍性大腸炎は特定疾患治療研究事業対象疾患として難病指定されているように、完治させることが未だに困難な疾患である。抗炎症薬やステロイド、免疫抑制剤に加え、近年は TNF α に対する抗体が使用されているものの、効果が不十分であったり、強い副作用のために治療を継続できないことがしばしばである。深刻なことは、これらの疾患が 20 才代を中心とする若年者に多く発症し、寛解に至っても再発を繰り返すことが多いことである。従って、潰瘍性大腸炎患者では全大腸切除を余儀なくされるケースが未だに多い。

病因には食事内容やストレスなどがある程度、影響していると考えられるが、潰瘍性大腸炎の発症機構に関しては未だ不明な点が多い。近年の潰瘍性大腸炎の患者数の増加は顕著であることから、新たな治療方法の開発の必要性が最も高い疾患の一つと認識されている。

我々が着目しているプロリン異性化酵素 Pin1 は様々な標的蛋白の pSer/pThr-Pro motif に結合し、プロリンのシストランス異性化を行うことにより標的蛋白の機能を調節するユニークな酵素である。著者は Pin1 の標的蛋白を新規に多数同定するとともに、Pin1 が糖・脂質代謝の調節においても重要な役割を果たしていることを世界に先駆けて証明してきた¹⁾。

最近、我々は、驚くべきことに、潰瘍性大腸炎モデルマウスの腸管ではプロリン異性化酵素 Pin1 の発現量が 50 倍近くにも増加していることを見出し、Pin1 と潰瘍性大腸炎発症に関与している可能性を考え、検討を行った。

方法および結果

1. 潰瘍性大腸炎モデルマウスの大腸での Pin1 発現変動

3%デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を飲料水としてマウスに一週間負荷することで、潰瘍性大腸炎様症状を誘発した。大腸組織での Pin1 の発現は、経時的に増加していることが認められた (図 1)。次にどの種類の細胞で Pin1 の発現が大きく増加しているかを検討した。まず、DSS 負荷後に大腸組織を摘出し、造血系細胞と上皮細胞に分離したのち、ウエスタンブロットにて Pin1 の発現を検討した。

その結果、造血系細胞において Pin1 の発現が顕著に増加していることが認められた (図 1B)。一方、上皮細胞での Pin1 の発現量は、DSS 負荷により、ほとんど変動しなかった。興味深いことに、DSS を負荷しても Pin1 の mRNA レベルは、変化しなかった。従って、潰瘍性大腸炎発症時には、Pin1 蛋白の分解が抑制されていると考えられた。

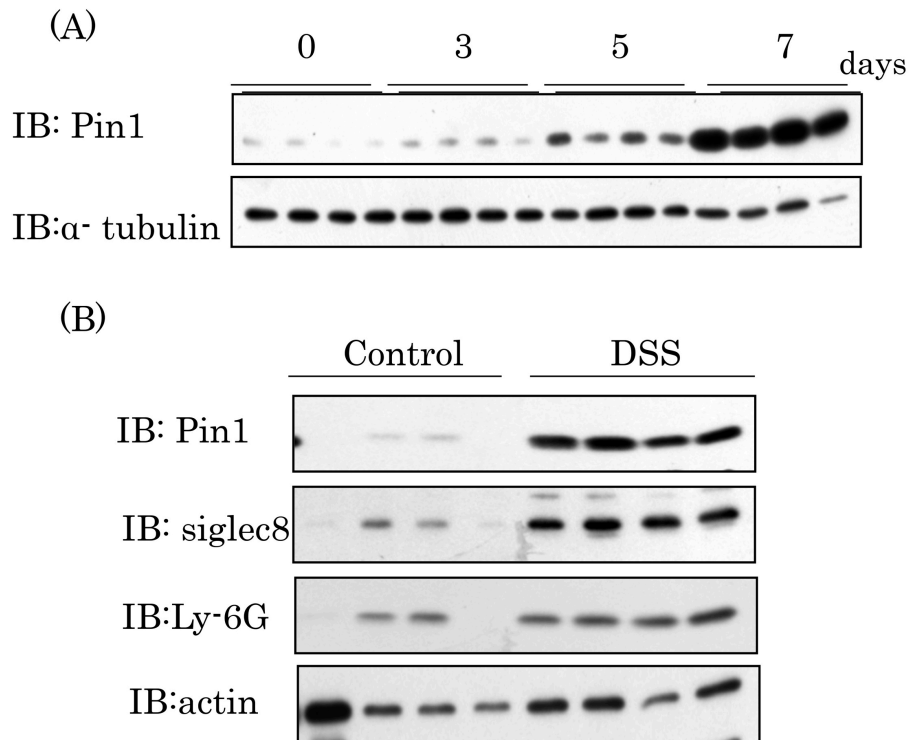


図1. 潰瘍性大腸炎モデルマウスの Pin1 発現変動

(A) DSS 負荷後の経時的な Pin1 発現変動。

(B) 大腸組織から分離した造血系細胞の Pin1 発現変動。

2. 潰瘍性大腸炎発症における Pin1 の役割

上記1に示すように、潰瘍性大腸炎モデルマウスの大腸組織では、Pin1 の発現が顕著に増加していた。そこで、Pin1 が潰瘍性大腸炎発症に関与するかを検討するために、Pin1 null マウスを用いて検討した。コントロールマウスと Pin1 null マウスに DSS を1週間負荷した後、大腸の組織観察を行ったところ、コントロールマウスでは、上皮組織の明確な障害が認められるのに対し、*Pin1* KO マウスでは、杯細胞の形状が維持されていた(図2)。これと一致するように、体重の減少や大腸の長さも *Pin1* KO マウスで改善していた。以上より、Pin1 は、潰瘍性大腸炎発症に重要な役割を担っていると考えられた。

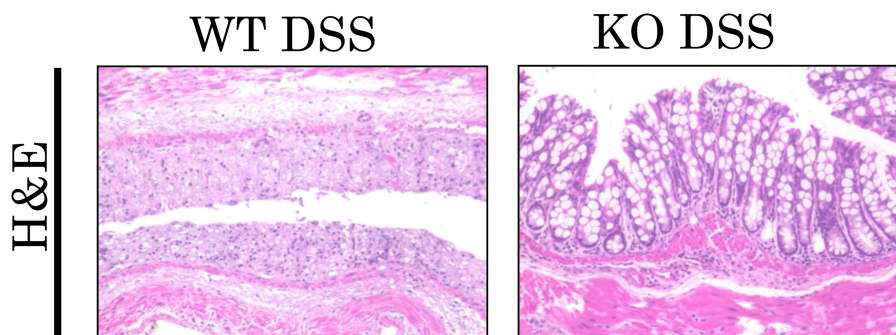


図2. DSS 負荷1週間後の大腸組織の HE 染色

コントロールマウスと *Pin1* KO マウスに DSS を1週間負荷した後、大腸を摘出し、HE 染色を行った。

そこで、上皮細胞の Pin1 が発症に関与しているかを検討するために、上皮細胞特異的 *Pin1* KO マウスを作製し、同様に実験を行った。しかしながら、上皮細胞特異的に Pin1 を欠損させても、潰瘍性大腸炎の症状は、軽減しなかった。

次に、血球系細胞の Pin1 の役割を検討するために、骨髄移植により、血球系細胞のみ Pin1 を欠損したマウスを作製し、同様の実験を行った。その結果、潰瘍性大腸炎症状の軽減が認められたため、血球系細胞の Pin1 がその発症に重要であると考えられた。

3. Pin1 を介した潰瘍性大腸炎発症メカニズムの解明

上記2より、血球系細胞の Pin1 が潰瘍性大腸炎発症に重要であることが認められたため、次にその作用機序について解析を行った。まず、DSS 負荷後の大腸組織の炎症性サイトカイン発現量について調べたところ、コントロールマウスの大腸組織では、DSS 負荷により TNF α 、IL-6 等の炎症性サイトカインの発現量が顕著に増加していたが、*Pin1* KO マウスの大腸組織では、この増加は顕著に抑制されていた (図3)。そこで次に、マクロファージの性質が変化したかを検討するために、大腸組織より血球系細胞を分離し、フローサイトメトリーにより M1 マクロファージ (炎症性) と M2 マクロファージ (抗炎症性) の割合を調べた。その結果、DSS 負荷により、コントロールマウスでは M1 マクロファージの割合が上昇するのに対し、*Pin1* KO マウスではその上昇が軽度であった。また、KO マウスでは、M2 マクロファージの割合が増加していた。以上より、Pin1 は、マクロファージの性質を変化させることで結果的に、サイトカインの発現誘導を行っていると考えられた。

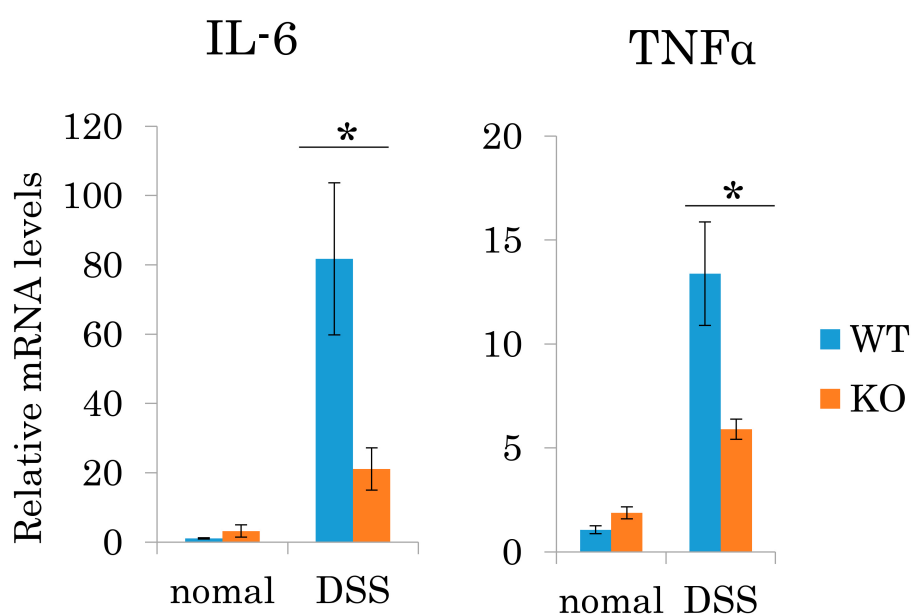


図3. 大腸組織における炎症性 サイトカインの発現量の変化
DSS を1週間負荷後の大腸組織での炎症性サイトカインの発現量を Real-time PCR にて測定した。

4. Pin1 阻害剤 Juglone による潰瘍性大腸炎治療効果の検討

上記2、3より、Pin1 が潰瘍性大腸炎発症に重要であることが明らかとなったため、次に Pin1 阻害剤として頻用されている Juglone を投与することで、DSS 負荷による潰瘍性大腸炎が軽減されるかを検討した。Juglone は、経口投与により毎日投与した。DSS 負荷一週間後に、大腸組織を摘出し、組織切片を観察したところ、無処置群と比較して症状が軽度であった。

考 察

本研究では、プロリン異性化酵素 Pin1 が潰瘍性大腸炎発症に極めて重要であることが明らかとなった。興味深いことに、上皮組織の Pin1 は、その発症への関与は低く、血球系細胞の Pin1 が重要であることも明らかとなった。その作用機序として、Pin1 は、炎症性サイトカインの発現量を調節していた。Pin は、癌組織において NF- κ B の活性調節に関与していることが報告されており、マクロファージでも同様の制御を行っている可能性が考えられる。また、詳細なメカニズムは不明であるが、Pin1 は、M1 マクロファージへの形質変化を促進することで、結果的に炎症を促進する方向へ進ませると推測された。また、Pin1 阻害剤 Juglone で潰瘍性大腸炎症状の軽減が認められたことから、Pin1 が潰瘍性大腸炎の新たな創薬ターゲットになる可能性があることが示唆された。

最後に、本研究に御支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Nakatsu Y, Matsunaga Y, Yamamotoya T, Ueda K, Inoue Y, Mori K, Sakoda H, Fujishiro M, Ono H, Kushiya A, Asano T. Physiological and Pathogenic Roles of Prolyl Isomerase Pin1 in Metabolic Regulations via Multiple Signal Transduction Pathway Modulations. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(9): E1495. PMID: 27618008