

【目的】マクロファージ ($M\phi$) は多彩な生理的役割を担うために、異なる機能的特徴を備えた複数種類の $M\phi$ に分極することが知られているが、その機構は未解明である。また、 $M\phi$ の分類は様々な基準によりなされ、特定の種類の $M\phi$ の生物学的意義の解明には、分類基準の分子的基盤の確立が枢要である。一方、transient receptor potential (TRP) タンパク質ファミリーは、環境や細胞内状態の変化を感知し活性化開口する Ca^{2+} 透過型陽イオンチャネル群を形成する。特に、TRPM2 と TRPM7 は正統的な機能である陽イオン透過から独立した酵素活性ドメインを有する「Chan-zyme」である。我々は、redox センサー或いは体温付近の温度センサーとして働く TRPM2 チャネルに注目し、TRPM2 が酸化ストレスや温度上昇という生体内外の環境因子により活性化し、炎症応答を促進することを明らかにしてきた。本研究では、炎症性細胞応答を調節するシグナル分子の複合体「TRPM2 チャネルソーム」の解明を目的に、STAT3-TRPM2 相互作用を中心にしたチャネルソームによる $M\phi$ の機能分極の分子基盤と炎症応答等の調節機構を探究した。

【方法】TRPM2 チャネルソームが司る $M\phi$ の M1/M2 型機能分化の解明を目指し、4 項目の実験を遂行した。第一に、STAT3 と TRPM2 を中心にしたチャネルソーム内タンパク質間相互作用を解析した。第二に、TRPM2 チャネルソームの STAT3 等の構成タンパク質が TRPM2 チャネル活性に及ぼす影響、タンパク質の修飾反応を介した TRPM2 チャネルソーム分解と活性減弱の機序を、質量分析、蛍光タンパク質融合化した TRPM2、STAT3 等の顕微鏡観察、各種阻害剤を組み合わせて解析した。第三に、TRPM2 チャネルソームによるシグナル経路、M1 及び M2 型関連遺伝子の転写の調節の解析を解析した。第四に、個体レベルで TRPM2 チャネルソームが M1 及び M2 への $M\phi$ 分化をどう調節するか、TRPM2 KO マウスを用いて担癌モデルにおける TAM $M\phi$ のがん転移能の亢進に着目して解析を進めた。

【結果】STAT3 と TRPM2 との会合は、活性酸素種 H_2O_2 により惹起される TRPM2 を介した Ca^{2+} 流入と JAK キナーゼによる TRPM2 と STAT3 のリン酸化により増強されることを見出した。また、組換え発現系と $M\phi$ 内在発現系において、STAT3 α と TRPM2 との間の会合が両タンパク質のレベルをプロテアソームやリソソームを介さず減少させ、 H_2O_2 及び ADP ribose により惹起される TRPM2 活性を減弱させることを確認した。本分解機序は H_2O_2 により惹起される TRPM2 を介した Ca^{2+} 流入が劇的に進行させ、STAT3 α の核移行を阻害することも分かった。さらに、TRPM2KO マウスにマウスメラノーマ細胞を用いた担癌を施し、担癌組織内の血管の新生・発達を観察したところ、野生型マウスより多数の新生血管が見られるが、それらはペリサイトが接着しない未成熟状態に留まることが観察された。また、血管成長因子 (VEGF) の Tumor-associated $M\phi$ (TAM) からの産生は TRPM2KO マウスにおいて有意に高く (つまり高い M2 性を示す)、これは過剰な VEGF が血管の分化を阻害する知見と一致していた。このように、TRPM2 発現が優位になると、 Ca^{2+} 流入を介して M1 性を亢進しながら STAT3 レベルの減弱により M2 性を抑制する一方、STAT3 発現が優位になると M2 性を亢進しながら TRPM2 の発現 (Ca^{2+} 流入) の減弱 (や欠損) により M1 性を抑制するという、我々が発想提起した $M\phi$ の機能分化 (M1 vs M2) に関する分子機構を支持する結果が得られた。

TRPM2 KO マウスにおける担癌組織内メラノーマ細胞の血管発達は未成熟に留まる

