

論文の内容の要旨

心血管リモデリングにおける転写因子 IRF3 の新規機能について

Ang II -ERK-IRF3 経路の解明

指導教員 永井良三教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

都島健介

心不全はあらゆる心疾患の終末像として出現する頻度の高い病態で、高齢化社会の進行に伴い今後も罹患患者数が増加しつづけることが予想されている。心不全の原因は高血圧性心疾患や虚血性心疾患など、生活習慣病の結果として発症する病態が主要な原因である。1980年代後半よりレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系 (RAA系)を標的とした治療が行われるようになり、心不全患者の予後は飛躍的に向上した。心不全の病体形成にRAA系が深く関わっており、特にアンギオテンシン II (AngII)は心不全治療の標的分子として重要である。

AngIIはもともと昇圧ホルモンとして同定されたが、昇圧作用以外にも多様な作用が報告されている。高血圧や糖尿病、虚血性心疾患の病態で、心臓や血管局所でAngIIの発現レベルが上昇しており、炎症生サイトカインやケモカインが誘導され、炎症を引き起こすことが知られている。しかし、AngIIにより炎症反

応が誘導される分子機序については不明な点が多い。

AngIIによる炎症誘導の分子機構を検討するために、免疫機能に異常のある遺伝子改変動物を用いて AngII 負荷モデルを作成した。スクリーニングの中で、ウイルス感染時の自然免疫応答に必須の転写因子である Interferon regulatory factor 3 (IRF3)を欠損したマウスで、心臓の線維化および炎症細胞の浸潤が著明に抑制されていることを見だし、AngIIによる情報伝達のなかで IRF3 が活性化されることを見いだした。

IRF3 は IRF ファミリー転写因子に属する約 50kDa のタンパク質で、IRF3 は、ヒトでは 427 アミノ酸、マウスでは 419 アミノ酸からなる。ウイルス感染時における I 型 IFN の遺伝子制御に重要な働きを有しており、自然免疫の分野で盛んに研究されている分子である。定常状態では非活性体として細胞質に存在する。ウイルス感染や Toll like receptor3/4 (TLR3/4)の刺激を受けると、C 末端側にあるセリン/スレオニン残基がリン酸化を受け、立体構造が変化し二量体を形成し、核内に移行する。核に移行した IRF3 は IFN β プロモーター上で CBP/p300 と結合し IFN β の産生を誘導する。

IRF3 欠損マウスでは AngII 負荷により、血圧や心重量比に野生型と有意差は認められなかったが、間質および血管周囲での線維化は抑制されていた。また、線維化巣への骨髄系細胞の浸潤も著明に抑制されていた。4 日目には CXCL10 をはじめとするケモカインの mRNA の発現が IRF3 欠損マウスで低下しており、AngII により誘導される炎症反応が低下した結果、線維化が軽減していたことが推測された。骨髄移植を用いた実験では、骨髄細胞での IRF3 の活性よりも、間葉系細胞での活性が重要であることが示唆された。

アンギオテンシン II type I レセプターを発現させた HEK293T 細胞を用いて AngII 下流での IRF3 活性化のシグナル伝達を検討した。AngII 刺激後、8 時間より IRF3 の核内への移行、バンドシフトが認められた。しかし、ウイルス感染時に認められる二量体の形成は AngII 刺激では認められなかった。セリン残基をアラニンに置き換えた変異体を用いた実験から、AngII 刺激による IRF3 の修飾はリン酸化も生じていたが、ウイルス感染には認められないリン酸化以外の修飾も必要であることがわかった。IRF3 結合配列 (ISRE 配列) をプロモーター領域に含んだ ISRE-luciferase によるレポーターアッセイを行ったところ AngII 刺激により IRF3 の転写活性化能は亢進していた。

MEK1/2 阻害剤により AngII による IRF3 の活性化が抑制され、恒常的活性化型の Ras によっても AngII 刺激と同様の活性化を受けることから、AngII による IRF3 の活性化は Ras-MEK-ERK 経路により活性化され、感染の際とは異なる新しい IRF3 の活性化メカニズムであることがわかった。

IRF3 により制御をうける新規遺伝子の探索するために AngII 負荷前後の心臓より採取した RNA を用いて GeneChip 解析を行った。その結果、IRF3 欠損マウスの心臓では、細胞内の脂質代謝に重要な働きを持っている Angptl4 および Acot1 が野生型と比較し有意に低下していた。

本研究において、AngII による心臓の線維化反応において IRF3 の活性化が重要であること、AngII 刺激により IRF3 はウイルス感染時とは全く異なる新規メカニズムで活性化されること、そして IRF3 が脂質代謝に関わっている可能性があること、が明らかになった。本研究の結果は、IRF3 が自然面径感染だけでなく心血管病や代謝疾患の病態解明に新たな視点を与えるものと期待される。

