

研究題目

尿酸トランスポーターの機能変動と炎症性疾患発症に関する研究

研究組織

研究代表者： 高田 龍平 (東京大学 医学部附属病院 薬剤部)
共同研究者： 齊藤 達哉 (徳島大学 先端酵素学研究所 炎症生物学分野)
研究協力者： 豊田 優 (東京大学 医学部附属病院 薬剤部)
研究協力者： 山梨 義英 (東京大学 医学部附属病院 薬剤部)
研究協力者： 鈴木 洋史 (東京大学 医学部附属病院 薬剤部)

【1】研究の概要

尿酸トランスポーターの研究を専門とする研究代表者（高田）と炎症応答の研究を専門とする共同研究者（齊藤）が共同研究を行うことで、尿酸トランスポーターの機能変動と炎症性疾患発症に関する新たな知見を得ることを目指し、研究を行った。具体的には、①尿酸トランスポーターABCG2と炎症性疾患発症に関する研究、②炎症制御に関わる新規遺伝子の臨床検体を用いた探索研究、③抗炎症薬によるNLRP3インフラマソームの抑制作用に関する研究を推進し、成果を得た。

【2】研究の背景

近年の研究の進展により、従来は環境要因の影響が大きいと考えられていた高尿酸血症や痛風などの生活習慣病の発症においても、遺伝的要因が重要であることが明らかとなってきた。研究代表者の高田らは、ABCG2が生理的な尿酸排出を担う尿酸トランスポーターであり、高尿酸血症および痛風の主要な病因遺伝子であることを報告した。しかしながら、ABCG2の機能低下は血清尿酸値制御と独立して痛風発症に関与している可能性が示唆されているものの、詳細は未だ不明である。

痛風は、特に足趾の関節における非感染性急性炎症発作を特徴とする疾患である。その発症には、高尿酸血症が持続することにより析出した尿酸塩結晶に対する自然免疫を介した炎症が関わっている。共同研究者の齊藤らは、自然免疫関連受容体であるNLRP3を含む複合体（NLRP3インフラマソーム）の活性化を微小管が促進すること、痛風治療薬コルヒチンが微小管重合阻害を介して痛風に対する抗炎症作用を発揮して

いることを明らかにするなど、痛風研究の発展に大きな貢献をしてきた。

このようは背景のもと、本研究においては、①尿酸トランスポーターABCG2と痛風発症の関連性、②痛風発症に関わる新規遺伝子の探索、③NSAIDsによるNLRP3インフラマソームの抑制作用、に関する研究を行った。

【3】研究方法

①尿酸トランスポーターABCG2と炎症性疾患発症に関する研究

*Abcg2*ノックアウトマウスまたは野生型マウス（FVB）の関節腔内にPBSで懸濁した尿酸結晶を投与し、6時間後に関節腔内のIL-1 β 濃度、好中球数、好酸球数を評価した。

②炎症制御に関わる新規遺伝子の臨床検体を用いた探索研究

倫理委員会の承認を受けて、日本人男性において、痛風患者と無症候性高尿酸血症患者の遺伝子多型を比較するゲノムワイド関連解析（GWAS）を行い、炎症制御に関わる遺伝子の探索を実施した。

③抗炎症薬によるNLRP3インフラマソームの抑制作用に関する研究

野生型マウス（C57BL/6）の腹腔由来マクロファージを用いて、Pam3CSK4による前処置を6時間行った後、抗炎症薬存在条件下にPBSで懸濁した尿酸結晶を投与し、2時間後にIL-1 β 濃度を測定した。同様に、プリン体であるアデノシン三リン酸（ATP）のほか、NLRP3インフラマソームと比較するためにフラジェリンやdsDNAによる刺激を実施し、2時間後に

IL-1 β 濃度を測定した。

【4】結果

①尿酸トランスポーターABCG2 と炎症性疾患発症に関する研究

野生型マウスにおいて、尿酸結晶刺激から6時間後のIL-1 β 濃度、好中球数、好酸球数の顕著な上昇が観察され、本モデルが痛風の病態モデルとして有用であると考えられた。しかしながら、各パラメーターについて *Abcg2* ノックアウトマウスでも同様の上昇が観察され、野生型マウスとの間に有意な違いは見られなかった。

②炎症制御に関わる新規遺伝子の臨床検体を用いた探索研究

GWASの結果、複数のゲノムワイド有意な関連遺伝子候補を見出すことができた。現在、これらの候補遺伝子と炎症制御との関連を検討している。

③抗炎症薬によるNLRP3インフラマソームの抑制作用に関する研究

野生型マウス由来の腹腔由来マクロファージに対して尿酸結晶による刺激を行ったところ、ジクロフェナクによりIL-1 β 濃度が有意に低下した。一方で、ロキソプロフェンではIL-1 β 濃度は低下しなかった。尿酸結晶と同様に関節炎の原因物質と考えられているプリン体ATPで刺激した場合にも、ジクロフェナクによりIL-1 β 濃度は低下するが、ロキソプロフェンでは低下しなかった。フラジェリンやdsDNAで刺激した場合には、ジクロフェナクではIL-1 β 濃度は低下しなかった。刺激に応じて放出されるプロスタグランジンE2 (PGE2)濃度は、ジクロフェナクとロキソプロフェンの各々により低下した。

【5】考察および今後の展望

①尿酸トランスポーターABCG2 と炎症性疾患発症に関する研究

ヒトと異なり、マウスは尿酸を代謝するウリカーゼを有するため、尿酸代謝をヒトに近づけるためにウリカーゼを欠損または阻害した条件での検討を行う必要があると考えられた。現在、ウリカーゼノックアウトマウスへの *ABCG2* 阻害薬の投与や、*Abcg2* ノックアウトマウスへのウリカーゼ阻害薬の投与を行い、*ABCG2* 機能の有無による尿酸結晶に対する反応性の違いを見出すべく、さらなる検討を進めている。

②炎症制御に関わる新規遺伝子の臨床検体を用いた探索研究

痛風発症との関連が見出された複数の遺伝子座については、見出された遺伝子多型に最も近い遺伝子が痛風に関連する可能性があるほか、その周辺の遺伝子が痛風に関連している可能性もある。今後は、これらの候補の中から痛風発症に真に関わる遺伝子を同定し、炎症制御との関連を検討していく。

③抗炎症薬によるNLRP3インフラマソームの抑制作用に関する研究

ジクロフェナクおよびロキソプロフェンはどちらも痛風発作における炎症に対して投与されるが、NLRP3インフラマソームを介したIL-1 β 放出に対する効果は異なっていた。ジクロフェナクは、尿酸結晶およびATPによるIL-1 β の放出を抑制した。よって、ジクロフェナクはファゴサイトーシスを阻害しているわけではなく、尿酸結晶とATPの双方により活性化する共通のシグナル伝達経路を阻害している可能性が高い。また、ジクロフェナクはNLRC4インフラマソームおよびAIM2インフラマソームを介したIL-1 β 放出を抑制しないことから、NLRP3インフラマソームを選択的に阻害する。COXに対する既知の薬理作用から予想できるように、ジクロフェナクおよびロキソプロフェンはともにPGE2濃度を低下させた。以上のことから、痛風治療薬の中で特に強い効果を発揮するジクロフェナクは、COXを介したPGE2の放出だけでなく、NLRP3インフラマソームを介したIL-1 β の放出を抑制することにより炎症を緩和している可能性が考えられた。

【6】成果発表

共同研究者である齊藤が徳島大学において開催した「第3回炎症・生体防御研究セミナー」において、研究成果を発表した。

(セミナー詳細)

開催日時：平成29年2月23日(木) 17:00～17:45

会場：徳島大学 日亜ホール White

演題：トランスポーターによる生活習慣病関連物質輸送と病態

参加者数：34名