

慢性炎症「肉芽腫」における好中球の新しい炎症制御系の解明

—M2 マクロファージの新たな誘導メカニズム解明—

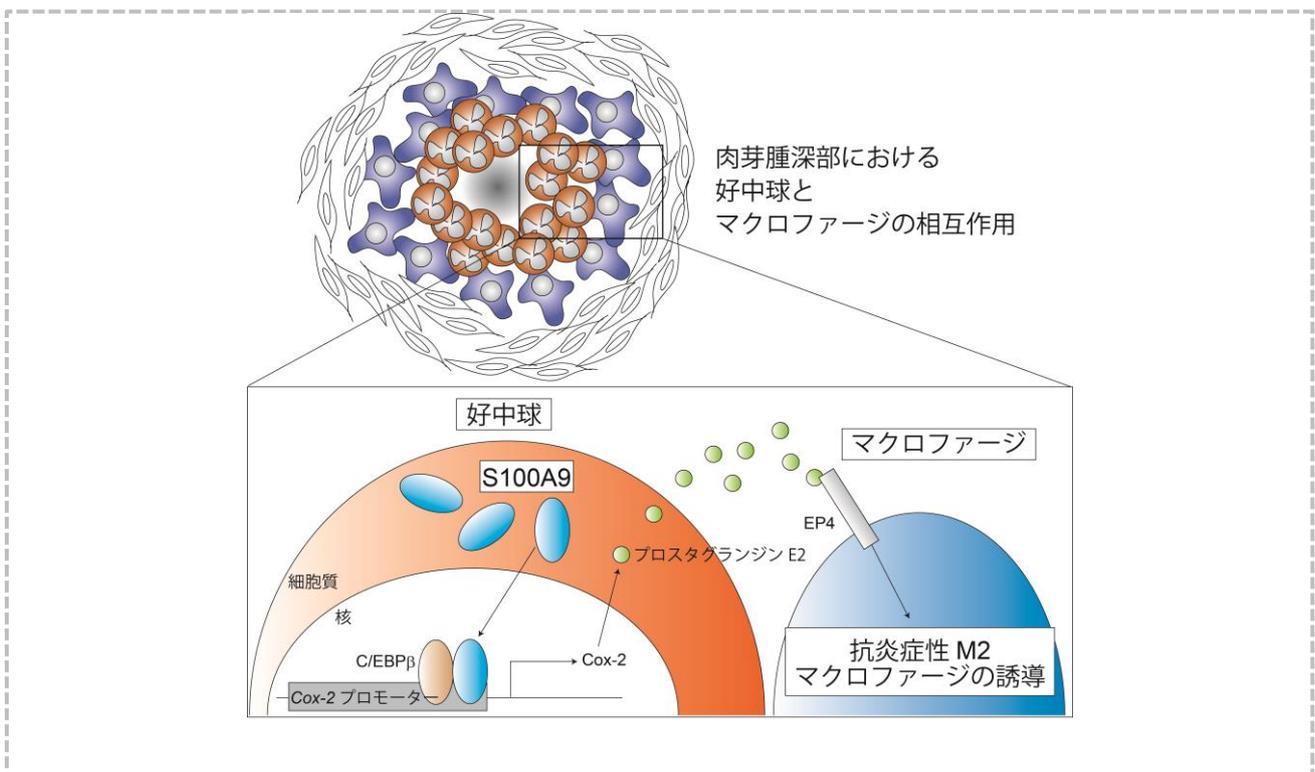
概要

結核などの慢性感染病態では、病原体と宿主免疫系の攻防の結果、マクロファージが同心円状に密に配置された球状の細胞集塊（肉芽腫）が形成されます。肉芽腫の内部には、炎症を抑える細胞が形成する特殊な環境が存在し、そのせいで異物や病原菌が長期間にわたって生存してしまいます。肉芽腫において炎症を抑える細胞が、どのようにして誘導されるのか、そのメカニズムは不明でした。京都大学医生物学研究所 水谷龍明 助教、杉田昌彦 教授の研究チームは、モルモット肉芽腫モデルを活用して、炎症抑制性 M2 マクロファージの肉芽腫分布を特定するとともに、S100A9 分子を高発現する活性化好中球が M2 マクロファージと隣接して存在することを発見しました。また、S100A9 ノックアウトマウスを用いた分子細胞生物学実験を通して、好中球 S100A9 を介した M2 マクロファージ誘導機序の解明に成功しました。今回の研究成果は、結核の病態形成の解明につながるだけでなく、がん性炎症の理解と制御に役立つことが期待されます。

本成果は、2023 年 1 月 29 日に米国の学術誌「*iScience*」にオンライン掲載されました。

本研究のイメージ図

肉芽腫深部における好中球の働き～抗炎症性 M2 マクロファージを誘導する好中球 S100A9 シグナル経路～



1. 背景

結核などの慢性感染病態においては、病原体と宿主免疫系の攻防の結果、マクロファージが同心円状に密に配置された球状の細胞集塊（肉芽腫^{注1}）が形成されます。肉芽腫は、異物や病原菌を排除するための強力な炎症反応ですが、その内部に炎症を抑えている特殊な環境が存在することが知られています。こうした炎症抑制性環境は、病原菌の長期生存を許す温床となってしまいます。炎症抑制性環境が誘導されるメカニズムは慢性感染病態の理解や制御に不可欠ですが、その詳細はほとんど不明でした。

2. 研究手法・成果

肉芽腫の炎症抑制環境の主体は、M2 極性^{注2}を示すマクロファージであることが推察されていました。研究チームは、ヒト結核肉芽腫と高い相同性を持つ、モルモット肉芽腫モデルを構築し、その病理解析を行いました。その結果、肉芽腫中心部にアルギナーゼ1を発現するM2マクロファージとS100A9を高発現する活性化好中球が隣接して存在することがわかりました。S100A9分子^{注3}は、細胞が障害を受けた際、細胞外に放出されて周りの細胞に働きかけるダメージ関連分子パターン（DAMPs）に分類されており、炎症制御系の多岐にわたって影響を及ぼす分子です。そこで、M2マクロファージ誘導におけるS100A9の影響を調べるため、S100A9ノックアウトマウス(A9KO)を作成し、S100A9によるM2誘導効果を調べました。結核菌アナログであるBCGを野生型とA9KOマウスに接種したところ、A9KO個体では、M2マクロファージが顕著に減少することがわかりました。また、BCG投与後の活性化好中球と未刺激のマクロファージを混合した共培養*in vitro*実験を行ったところ、A9KO好中球によるマクロファージM2誘導能が顕著に障害されることを明らかにしました。ついで、M2マクロファージの誘導に関わるS100A9シグナルの分子基盤を解明すべく、好中球のRNA-seqを行ったところ、プロスタグランジン合成酵素であるシクロオキシゲナーゼ2(Cox-2)が、S100A9に依存して発現することを突き止めました。S100A9は、従来のDAMPsの作用とは異なり、核内において転写補因子のような働きをすることで、Cox-2発現を亢進させる働きがあることがわかりました。好中球におけるCox-2発現亢進は、プロスタグランジンE2の産生を促し、隣接するマクロファージのプロスタグランジン受容体(EP4)に作用し、M2極性を付与することがわかりました。最終的には、Cox-2に対する特異的阻害剤（セレニシコブ）をモルモット肉芽腫モデルに投与することで、肉芽腫深部のM2マクロファージが顕著に阻害されることがわかり、S100A9-Cox-2経路がM2マクロファージの誘導に重要な役割を持つことが明らかになりました。今回明らかとなった好中球におけるS100A9-Cox-2経路は、M2マクロファージの新たな誘導経路の発見のみならず、結核病態を理解する重要な知見になると考えています。

3. 波及効果、今後の予定

今回の研究成果は、結核慢性感染を制御する新たな治療開発に向けた基盤的成果になるものと考えています、ただし、マウスやモルモットといった実験動物から得られた結果であり、ヒトで同様の現象が生じるのかを明らかにすることが重要です。好中球が発現するS100A9は、がんの慢性炎症病態の理解と制御に向けた重要なカギとなる可能性があるため、悪性腫瘍を題材とした発展的研究も進めています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は「科学研究費助成事業 基盤研究C（課題番号: JP17K08659 及び JP22K07167）」、大山健康財団、藤原財団等の支援によって行われました。

<用語解説>

(注1) 肉芽腫

結核感染時、活性化したマクロファージが同心円状に重なっている細胞集塊です。層状に集まったマクロファージによって、病原体は外部との接触を断たれつつ、強力な炎症反応によって死滅すると考えられています。しかし、一部の病原菌は肉芽腫炎症反応を逃れて、肉芽腫の内部において長期間生存し、炎症が持続化してしまうことが知られています。肉芽腫は、結核感染だけではなく、クローン病やサルコイドーシスなどの疾患においても生じることが知られています。

(注2) M2 極性

マクロファージは、異物の貪食や抗原提示といった免疫反応の第一線で働く自然免疫細胞の一つであり、周囲の生体環境に対応して、様々な機能を発揮することがわかっています。こうした環境依存的変化は、時に可逆的であり、「極性」という単語を用いて、マクロファージの機能型を表現します。現在のところ、大きく分けて M1 と M2 極性が知られており、概して M1 は炎症を促進する機能を有し、M2 極性では、アルギナーゼや IL-10 といった分子を発現することから、炎症を抑制・収束させるマクロファージと考えられています。

(注3) S100A9

好中球において非常に高い発現を呈するタンパク質で、多くの生理機能を持つことが知られています。よく知られている機能は、細胞外に放出されて周囲の細胞に危険シグナル（細胞の障害など）を伝える作用です。この生理機能からダメージ関連分子パターン（DAMPs）と呼ばれる分子群に分類されています。一方で、細胞質における脂質の輸送や、今回発見された核内における遺伝子発現制御など、いろいろな分子機能も見つかってきており、S100A9 の機能について、その全貌解明は依然として未解明の部分が残されています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Neutrophil S100A9 supports M2 macrophage niche formation in granulomas

著者：Tatsuaki Mizutani, Toshiaki Ano, Yuya Yoshioka, Satoshi Mizuta, Keiko Takemoto, Yuki Ouchi, Daisuke Morita, Satsuki Kitano, Hitoshi Miyachi, Tatsuaki Tsuruyama, Nagatoshi Fujiwara, Masahiko Sugita.

掲載誌： *iScience* DOI：10.1016/j.isci.2023.106081

<参考図表>

図 1. モルモット肺肉芽腫モデルの免疫組織化学染色

M2 マクロファージのマーカー分子であるアルギナーゼ (Arg1, 左図: 緑色) が、S100A9 陽性好中球 (赤色) を取り囲むようにして、肉芽腫の中心部に集積しています (左図)。一方で、炎症を促進する機能を持つ一酸化窒素合成酵素 (NOS2) 陽性の M1 マクロファージ (右図: 緑色) は、肉芽腫の広範囲にわたり分布することがわかりました。青色は、核染色 (DAPI) であり、破線 (白色) は肉芽腫の境界線を示しています。スケールバー: 500 μ m

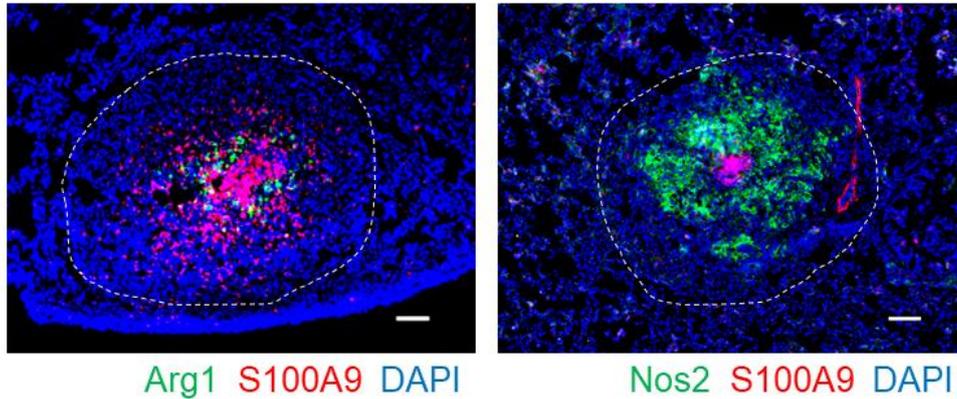


図 2. 好中球 S100A9 タンパク質を介した肉芽腫 M2 形成機序

好中球とマクロファージの相互作用の結果、肉芽腫中心部に M2 環境が形成されます。好中球の S100A9 タンパク質は、核内においてシクロオキシゲナーゼ 2 (Cox-2) プロモーターに結合し、遺伝子発現誘導を助長します。Cox-2 によって合成されたプロスタグランジン E2 は、近接するマクロファージのプロスタグランジン受容体 (EP4) に作用することで、M2 極性をマクロファージに付与します。

