

## 研究報告書

### 「慢性腎炎発症マウスモデルを用いた発症機序の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 24 年 10 月～平成 28 年 3 月

研究者: 加藤 博己

#### 1. 研究のねらい

細胞内ウイルス RNA センサーである MDA5 は、ウイルス感染の際、複製産物である二本鎖 RNA を認識して抗ウイルスインターフェロン応答を誘導する。この MDA5 による抗ウイルス応答が正常に機能しない場合、ウイルス感染に非常に弱くなってしまふ。一方、最近我々は MDA5 が変異により恒常活性化型となったマウスを得る事が出来た。この変異マウスは、ウイルス感染に強くなるのではなく、慢性腎炎などを含む自己免疫疾患を自然発症する事が明らかとなった。解析の結果、MDA5 の恒常活性化が樹状細胞やマクロファージの恒常的な活性化およびインターフェロン産生を誘導し、T 細胞の活性化を介し B 細胞からの自己抗体 (抗 dsDNA 抗体や抗核抗体など) を含む過剰抗体産生を引き起こすことが慢性腎炎の原因である事が明らかとなった。またこのマウスの腎炎の所見がヒトの病気であるループス腎炎に類似する事が明らかとなった。実際のループス腎炎患者においても MDA5 の変異が最近発見され、このマウスがループス様腎炎の良いモデルとなる事が期待される。今後、この MDA5 変異マウスを用いてループス腎炎の予防、診断、治療法の確立を目指しさらに研究を進める。また、抗ウイルスインターフェロン応答を含めた自然免疫機構の異常活性化が引き起こす自己免疫疾患に関して、幅広く研究を展開すること考えている。

#### 2. 研究成果

##### (1) 概要

化学変異原 ENU を用いて得られた慢性腎炎を自然発症するマウスに、ウイルス RNA センサー MDA5 の恒常活性化型変異が存在する事を明らかにした。この変異により、MDA5 が構造変化を起こし、活性化型となることが原子間力顕微鏡を用いた蛋白質の形状解析により明らかとなった。また、腎炎の病態解析の結果、MDA5 の恒常活性化が樹状細胞やマクロファージの恒常的な活性化およびインターフェロン産生を誘導し、T 細胞の活性化を介し B 細胞からの自己抗体 (抗 dsDNA 抗体や抗核抗体など) を含む過剰抗体産生を引き起こし、さらに免疫複合体が糸球体に沈着することが慢性腎炎の原因である事が明らかとなった。このマウスの腎炎の所見がヒトの病気であるループス腎炎に類似する事も明らかとし、MDA5 変異マウスのループス様腎炎に関して 2014 年 2 月 Immunity 誌に報告し (論文発表欄 5 参照)、次ページの図の様に、ウイルス核酸センサーの異常活性化が自己免疫疾患を引き起こす事を直接証明する事が出来た。最近、実際のループス腎炎患者において、MDA5 の変異が発見され、このマウスがループス様腎炎の良いモデルとなる事が期待される。この MDA5 変異マウスを用いて、薬剤を用いたループス腎炎治療法の確立に現在取り組んでいる。

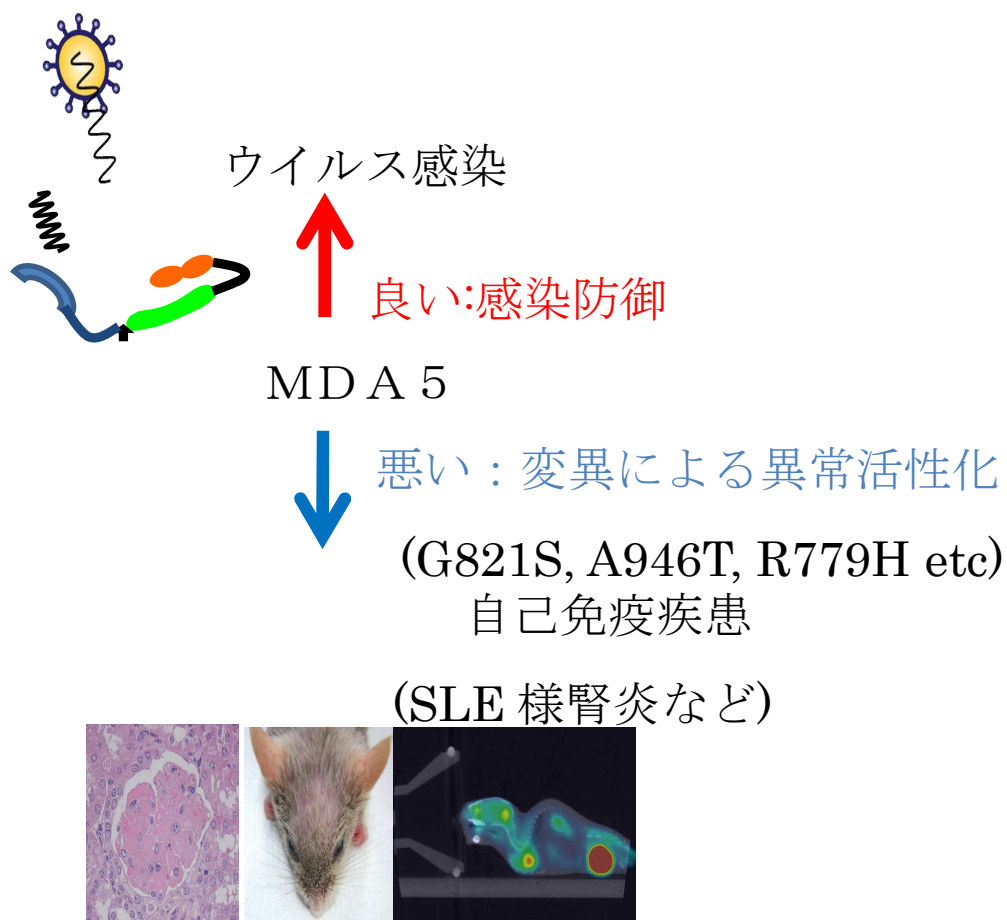


図 ウイルス RNA センサーMDA5 は、正常に働く場合我々の体をウイルス感染から防御してくれるが、変異などにより異常活性化すると自己免疫疾患を引き起こす

## (2) 詳細

主に3つのテーマ、マウスの病態解析、マウスの作製、治療法の確立に関して、研究を遂行してきた。詳細は以下の通りである。

### 1) マウスの病態解析

腎炎の病態および発症メカニズムに関して、2014年2月 Immunity 誌に報告した。ループス様腎炎であることが明らかとなり、現在特定の自己抗体の与える影響を中心に解析している状況である。

### 2) マウスの作製

MDA5 変異マウスが持つ変異 G821S を、細胞特異的に発現する conditional knock-in マウスを作製している。現在、色々な細胞種で発現させるために、各細胞種特異的なプロモーターで cre を発現するマウスとの掛け合わせている段階である。

また、ループス腎炎患者で発見された MDA5 の変異体を発現するトランスジェニックマウス

を現在作製中である。

### 3) 治療法の確立

変異マウスを用いて、様々な薬剤を投与し、腎炎に与える影響を検討している。MDA5 からのシグナルを抑制する薬剤の中で、腎炎を軽減するものが見つかってきている段階である。

各研究テーマに関して、さきがけ研究期間中にすべてを完了させることは出来なかったが、研究テーマがより興味深く広がってきていることもあり、期間内に Immunity 誌に1報論文を報告できた事を考慮すると、期間中の研究目的は概ね達成できたと考えている。今後も1-3のテーマを中心に研究を進め、研究論文として報告して行きたい。

## 3. 今後の展開

MDA5 変異マウスの腎炎の所見が、ヒトの病気であるループス腎炎に類似する事が解析により明らかとなってきた。実際のループス腎炎患者においても MDA5 の変異が最近発見され、このマウスがループス様腎炎の良いモデルとなる事が期待される。そこで、この MDA5 変異マウスを用いて様々な薬剤、特に MDA5 のシグナル伝達を阻害できるような薬剤を投与することにより、この変異マウスの病態が軽減できるかを詳細に検討する。また、治療法だけでなく MDA5 が関与する一部のループス腎炎の予防、治療法の確立を目指しさらに研究を進めていく。

## 4. 評価

### (1) 自己評価

(研究者)

本さきがけ研究内に、MDA5 変異マウスのループス様腎炎に関して 2014 年 2 月 Immunity 誌に報告する事が出来た(論文発表欄 5 参照)。この内容が新聞4誌にプレスリリースされた事により、一般のループス腎炎患者の方からメールを直接頂くなど、反響の大きさを実感するとともに、研究をさらに進め治療法開発への責任感を強く感じている。また、この研究内容が認められ、それから 2 年程度の間、MDA5 と自己免疫疾患に関するレビューの執筆を 3 報(論文発表欄 1、2、4 参照)行い、また 2015 年 10 月には国際学会にて招待講演を行う事が出来た。これまでの、ウイルスに対する免疫応答機構という自然免疫の研究分野から、さらに自然免疫と自己免疫疾患との関わりという新たな分野において注目されるようになり、研究者としての飛躍を実感し自信にも繋がっている。さきがけ研究を通じ、さきがけ領域内外の様々な研究者との共同研究が増え、特に京都大学小児科、眼科や膠原病内科など臨床の先生方との連携が強まっている現在の共同研究状況、さらに MDA5 に変異を持つ自己免疫疾患患者からの臨床サンプルを提供頂けている研究環境に感謝している。

領域会議を通じ、さきがけ研究のおかげでヒトへの応用というものをより強く意識するようになった。期間内に論文として報告できたのは研究成果の一部だが、今後もさらに研究が発展し、最終的にループス腎炎やその他の自己免疫疾患への予防、治療、診断法の確立に繋がることを望んでいる。研究における意識と遂行能力の大いなる飛躍があったこと、多くの研究者との連携が取れている現況を考慮し、能力を十分発揮できたと自己評価したい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での

評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

化学変異原ENUを用いて得られたループス様腎炎を自然発症するマウスを詳細に解析し、腎炎発症の原因が細胞内ウイルスRNAセンサーであるMDA5の G821S変異であることを発見した。また、この変異によりMDA5が構造変化を起こして恒常活性化型となることを、原子間力顕微鏡を用いて明らかにした。このマウスではMDAが恒常的に活性化され、結果として樹状細胞やマクロファージの恒常的な活性化と炎症性サイトカインの発現、とりわけインターフェロン産生の上昇、T細胞の活性化とB細胞による自己抗体の産生を引き起こし、抗体、補体を含む免疫複合体が糸球体に沈着することが慢性腎炎の原因であることを示した。このマウスの腎炎の所見はヒトSLEで見られるループス腎炎に似ていることを示し、発表した。最近、ループス腎炎患者においてもMDA5の変異が発見され、このマウスがループス様腎炎などの自己免疫疾患の良いモデルとなることが期待されている。今後、MDA5変異マウスを用い、ループス様腎炎の予防法や治療薬開発に役立つことを期待している。

本さがけ研究により、ウイルス核酸センサーの異常活性化が自己免疫疾患を引き起こすことを直接証明している。この詳細な解析と成果は高く評価したい。臨床を含めたさがけ領域内外のさまざまな研究者との共同研究等により、MDA5変異マウスを用いループス腎炎の阻害剤の開発研究や治療法の確立など、今後さらなる発展が期待できる。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1) 論文(原著論文)発表

1. Kato H and Fujita T.  
Cytoplasmic viral RNA sensors: RIG-I-like receptors.  
Encyclopedia of Immunology, in press
2. Kato H and Fujita T.  
RIG-I-like receptors and autoimmune diseases.  
Curr Opin Immunol. 2015 Oct 27;37:40-45
3. Oda H , Nakagawa K, Abe J, Awaya T, Funabiki M, Hijikata A, Nishikomori R, Funatsuka M, Ohshima Y, Sugawara Y, Yasumi T, Kato H, Shirai S, Ohara O, Fujita T, Heike T.  
Aicardi-Goutieres syndrome is caused by IFIH1 mutations.  
Am J Hum Genet. 2014 Jul 3;95(1):121-5
4. Kato H and Fujita T.  
Autoimmunity caused by constitutive activation of cytoplasmic viral RNA sensors.  
Cytokine Growth Factor Rev. 2014 Dec;25(6):739-43.
5. Funabiki M, Kato H , Miyachi Y, Toki H, Motegi H, Inoue M, Minowa O, Yoshida A, Deguchi K, Sato H, Ito S, Shiroishi T, Takeyasu K, Noda T, Fujita T.  
Autoimmune disorders associated with gain of function of the intracellular sensor MDA5.  
Immunity. 2014 Feb 20;40(2):199-212

### (2) 特許出願

研究期間累積件数:0件  
該当なし。

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

◎2014年2月15日 読売新聞(夕刊7面)「膠原病の原因物質発見」

◎2014年2月15日 京都新聞(27面)「膠原病の原因遺伝子特定」

◎2014年2月14日 朝日新聞(7面)「エリテマトーデス原因遺伝子を確認」

◎2014年2月19日 日刊工業新聞(21面)「全身性エリテマトーデス原因遺伝子を発見」

上記4誌に主要論文 5.(Autoimmune disorders associated with gain of function of the intracellular sensor MDA5)の内容が掲載された。

また、2014年の日本免疫学会および2015年10月13日の国際学会 11<sup>th</sup> annual meeting of Oligonucleotide Therapeutics Society (オランダ ライデン)にて、Autoimmunity caused by constitutive activation of cytoplasmic viral RNA sensors RIG-I like receptors のタイトルで、招待講演を行った。その他、学会の口頭発表や海外を含む大学でのセミナーも多数行った。