

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業 戦略的国際科学技術協力推進事業 (インド)

(英語) International Collaborative Research Program  
Strategic International Research Cooperative Program (India)

研究開発課題名：(日本語) 細菌感染にて誘導される反応性関節炎の炎症アンブ活性化の修飾による新規診断法の開発

(英語) Identification of biomarkers for infection-induced reactive arthritis based on the inflammation amplifier

研究開発担当者 (日本語) 村上正晃

所属 役職 氏名：(英語) Institute for Genetic Medicine, Director, Masaaki Murakami

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

反応性関節炎 (ReA) は、消化管等の遠隔部位のサルモネラ菌やエルシニア菌による感染によって引き起こされる関節炎である。インドではサルモネラ菌感染は最も一般的な感染症のひとつであるので、ReA の罹患率が高い。これと一致して、エルシニア菌などが一般的な ReA の原因である西洋諸国とは対照的に、インドではサルモネラ菌による ReA が約 1/3 を占める。しかし、ReA の詳細な発症機序はまだ明らかになっておらず、臨床応用できるバイオマーカーは開発されていない。その一因として、ReA の良い動物モデルが存在しないことが挙げられる。

日本側の村上研究室では、慢性炎症に関する一連の研究から、非免疫細胞での炎症誘導機構「炎症アンブ」を発見し、それが多くの炎症性疾患モデルの病態形成に必要であること、そしてヒトの炎症性疾患に関与することを報告している。この炎症アンブは、インターロイキン (IL) -17A および IL-6 などの下流で活性化する転写因子 NF- $\kappa$ B および STAT3 の同時作用によって大量のケモカインを誘導する機構である。インド側の Misra 研究室では、ReA 患者検体を用い、炎症アンブの活性化に繋がる IL-17A や IL-6 が ReA 患者の血清および関節液中に大量に含まれることを見出している。これらのことから、日本側-インド側研究室の共同研究により、炎症回路に基づいた ReA の動物モデルの開発、バイオマーカーや治療標的の探索を行い、ReA 臨床検体を用いてこれらを実証することを目的とする。さらに、若手研究者の

交流によって、これまで、疾患モデルを扱うことがほとんど無かった Misra 研究室に新たな研究基盤を作ることができる。また、本共同研究に専属の研究者を配置することで、共同研究が進むことが予想される。これら共同研究の発展にて ReA で苦しむ患者のバイオマーカーを用いた確定診断、有効な治療法が開発され、公共の福祉に貢献する。

これまでにサルモネラ菌感染マウス由来の血清成分を、炎症回路が増強している F759 マウスの関節内に局所投与することによって、臨床スコアとしてより明らかな ReA 様関節炎をより早期に誘導できることを見出した。さらに、この血清成分中からサルモネラ由来タンパク質を検出した。この血清成分を介した関節炎誘導は、消化管感染がなぜ遠隔部位の関節に炎症を起こすかを説明できる現象であり、これに着目して引き続き ReA 病態の研究を、この動物モデルおよび同定したサルモネラ由来タンパク質を利用して推進する。また、ReA 患者血清中で炎症アンプの活性化を示す因子群の増加が認められ、関節リウマチと比較して有意に高い値を示す因子も存在した。

Misra 研究室の若手研究者が村上研究室に在籍し、ReA モデルの誘導法を習得した。その解析、ReA 発症の分子メカニズムの検証を進めている。また、2nd Scientific Symposium of Japan-India Research Exchange Projects within SICP を主催し、インド側研究代表者を北海道大学に招へいた。

Reactive arthritis (ReA) is a sterile inflammation of joints, triggered by infection at a distant site i.e. gastro-intestinal tract with *Salmonella*, *Yersenia*, *Shigella*, or *Campylobacter*. It is a major health problem causing acute and chronic arthritis in adolescent and young adults. Since *Salmonella typhimurium* is one of the commonest causes of bacterial diarrhea in India, therefore incidence rate of occurring ReA is expected to be high. Indeed, in sporadic ReA, the Misra laboratory has reported that *Salmonella typhimurium* accounts for one-third of cases in our community, in contrast to *Yersinia* and *Chlamydia* in Western countries. However, there are challenges in this disease, as there are no diagnostic tests as well as diagnostic biomarker for prognostification. One factor limiting the development of specific biomarker and therapy of ReA is the absence of a good animal model for the study of the molecular mechanisms involved.

The Murakami laboratory has discovered a chronic inflammation inducing machinery “inflammation amplifier” in local tissues. The inflammation amplifier induces excessive productions of inflammatory chemokines and growth factors in non-immune cells including endothelial cells, fibroblasts, glia cells, and epithelial cells, which is activated by the simultaneous activation of NF $\kappa$ B and STATs in response to cytokines such as interleukin (IL)-17A and IL-6. Dr Misra has found that presence of these cytokines in large quantities in synovial fluids of ReA patients. Therefore, the Japan-India collaboration by these laboratories will lead to establish a ReA animal model to study ReA pathogenesis and develop a biomarker and therapeutic strategy to ReA.

The Murakami group improved the ReA model by injecting serum components derived from *Salmonella*-infected mice at the ankle joints of mice. Furthermore, *Salmonella*-derived proteins were detected in the serum components. This phenomenon can explain joint inflammation by infection at the distant site (i.e. gastro-intestinal tract). Therefore, the pathogenesis of the serum component-induced arthritis will be extensively studied using this model system and the *Salmonella*-derived proteins. In addition, the evidence of the amplifier activation in ReA patient was further supported by the observation that the amplifier-target soluble factors were elevated in sera of the patients in India.

Young researchers from the Indian side joined in the Murakami laboratory and learned experimental techniques to induce the ReA mouse model and analyze it. In February 2017, the Murakami group organized the 2nd

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 2 件）

1. Murakami, M. Recent advances in neuroimmune interactions. Clin Exp Neuroimmunol. 8: 3-4, 2017
2. Ohki, T., D. Kamimura, Y. Arima, M. Murakami. Gateway reflex, a new paradigm of neuro-immune interaction. Clin Exp Neuroimmunol. 8: 23-32, 2017
3. Higuchi, K., D. Kamimura, A. Stofkova, N. Nishikawa, T. Ohki, Y. Arima, M. Murakami. Gateway reflexes are stimulated by neural activations and promote the pathogenesis of multiple sclerosis models. Nutrition and Lifestyle in Neurological Autoimmune Diseases. Chapter 5, 39-45, 2017
4. Meng, J., J-J Jiang, T. Atsumi, H. Bando, Y. Okuyama, L. Sabharwal, I. Nakagawa, H. Higuchi, M. Ota, M. Okawara, R. Ishitani, O. Nureki, D. Higo, Y. Arima, H. Ogura, D. Kamimura and M. Murakami. Breakpoint cluster region-mediated inflammation is dependent on casein kinase II. J Immunol 197(8), 3111-3119, 2016
5. Ota, M., D. Kamimura, I. Nakagawa, H. Higuchi, Y. Tanaka, M. Fujita, S. Hiratsuka, M. Okawara, K. Murakami, T. Atsumi, Y. Arima and M. Murakami. Control of chronic inflammation by the inflammation amplifier and gateway reflexes. Advances in Medicine and Biology 104: Chapter 4, 65-86, 2016
6. 有馬康伸、村上正晃、上村大輔 「神経刺激による免疫細胞ゲートの開放と自己免疫疾患」 メディカルサイエンスダイジェスト 42(6): 14-17, 2016
7. 村上正晃 「炎症回路とゲートウェイ反射の制御による病気、病態の予防、治療の可能性」 BIO EX-press 34-39, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 「India-Japan collaboration with the inflammation amplifier」、口頭、村上正晃、2017年3月23日 2nd Scientific Symposium of Japan-India Research Exchange Projects within SICP 北海道大学 北海道札幌市（国内）
2. 「自己免疫疾患における T 細胞の関与」、口頭、村上正晃、2017年3月10日 武田薬品工業基礎研究セミナー 武田薬品工業 大阪府大阪市中央区（国内）
3. 「炎症回路とゲートウェイ反射による関節炎などの慢性炎症病態の制御」、口頭、村上正晃、2016年12月15日 広島 RA 基礎セミナー 広島大学 広島県東広島市（国内）
4. 「Regulators of chronic inflammation, cytokines, and neural stimulation」口頭、村上正晃、2016年11月25日 第22回 Kyoto Cornea Club ウェスティン都ホテル京都 京都府京都市（国内）
5. 「炎症回路とゲートウェイ反射による慢性炎症性疾患の制御」、口頭、村上正晃、2016年10月20日 第3回ロンザプレミアカンファレンス ホテルモンテ札幌 北海道札幌市（国内）
6. 「ゲートウェイ反射、局所の交感神経活性化を起点とする炎症誘導機構御」、口頭、村上正晃、2016年10月14日 第3回日本リウマチ学会ベーシックリサーチカンファレンス 東

京アキバプラザ 東京都千代田区（国内）

7. 「ゲートウェイ反射による炎症誘導機構御」、口頭、村上正晃、2016年9月28日 中外製薬 Joint Symposium アスティ 45 北海道札幌市（国内）
8. 「痛み刺激は感覚神経-交感神経の活性化を介して多発性硬化症モデルの病態を再発させる」、ポスター、上村大輔、有馬康伸、村上正晃、2016年9月25日 第89回日本生化学会大会 仙台国際センター 宮城県仙台市（国内）
9. 「Gateway reflexes regulated by inflammation amplifier」、口頭、村上正晃、2016年8月21-26日 第16回国際免疫学会議 ワークショップ Melbourne Convention and Exhibition Centre、オーストラリア メルボルン（海外）
10. 「炎症回路とゲートウェイ反射による炎症性病態の制御」、口頭、村上正晃、2016年8月17日 ノーステック財団ライフサイエンスセミナー FMI国際拠点 北海道札幌市(国内)
11. 「ゲートウェイ反射による神経炎症の惹起機構」、口頭、村上正晃、2016年7月17日 第1回 Japanese School of Neuroimmunology シンポジウム 東京医科歯科大学 東京都文京区（国内）
12. 「ゲートウェイ反射、感覚神経の活性化を起点とする炎症誘導機構」、口頭、村上正晃、2016年7月16日 第20回日本神経麻酔集中治療学会 ホテルオークラ札幌、北海道札幌市(国内)
13. 「新しい炎症制御機構ゲートウェイ反射」、口頭、村上正晃、2016年6月20日 サノフィ Lecture Meeting 東京オペラシティータワー 東京都新宿区（国内）
14. 「神経による炎症制御機構ゲートウェイ反射」、口頭、村上正晃、2016年6月16日 中外製薬創薬研意見交換セミナー 中外製薬富士御殿場研究所 静岡県御殿場市（国内）
15. 「新しい神経による炎症制御機構、ゲートウェイ反射」、口頭、村上正晃、2016年5月31日 千里ライフサイエンス神経免疫疾患セミナー 千里ライフサイエンスセンター 大阪府豊中市（国内）
16. 「末梢神経を起点とする炎症の制御機構」、ゲートウェイ反射、口頭、村上正晃、2016年4月22日 第39回末梢神経を語る会 広島国際会議場 広島県広島市（国内）

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「ここまでわかった病は気から」、村上正晃、免疫ふしぎ未来 2016、2016年8月7日、日本科学未来館、東京都江東区（国内）

### (4) 特許出願