

## 炎症を理解するために光を利用

—ホタルの発光機構と炎症反応を巧みに組み合わせたマウスの誕生—

### 本研究成果のポイント

- 炎症時に活性化するタンパク質の働きを遺伝子工学の利用によって見える化
- 炎症が生じれば、その時・その部分だけでカラダが明るく光る
- 様々な健康障害に関わる炎症を今まで以上のレベルで研究できるツールとなる

国立大学法人群馬大学（平塚浩士学長）は国立大学法人熊本大学（原田信志学長）、理化学研究所（松本紘理事長）および株式会社トランスジェニック（福永健司社長）との共同研究により炎症反応をマウス生体レベルで研究するのに大きく役立つ方法の開発に成功しました。群馬大学大学院医学系研究科（峯岸敬研究科長）の岩脇隆夫講師が中心になって行った研究の成果です。

炎症は古くから知られる免疫応答の一つであり、カラダに傷を負ったり、菌やウイルスに感染したりすることで生じます。おそらく多くの人を経験していることでしょう。その炎症の特徴には「発赤」や「発熱」、「疼痛」、「腫脹」、「機能障害」が挙げられ、場合によって私たちは肉眼でも炎症部位を見つけ出すことができます。しかしながら炎症を細胞や分子（遺伝子やタンパク質など）のレベルで詳しく理解するために、最近では様々な生体イメージング（可視化）技術が利用されています。その一環として本研究グループは炎症時に活性化するタンパク質（インターロイキン-1 $\beta$ ）の性質に着目して炎症を可視化する新たな技術の開発に取り組んできました。

実際に研究グループが行ったことはホタルが発光する仕組みとインターロイキン-1 $\beta$ に備わる性質の遺伝子工学を利用した融合です。また、そのとき作成された人工遺伝子をマウスの受精卵に導入して遺伝子組換えマウスを作製しました。さらに、このマウスを用いることで、炎症が生じたカラダの部分に炎症が生じた時にだけ明るく光らせることに成功しました。例えば、肝炎を引き起こすような状態では肝臓が、膵炎を引き起こすような状態では膵臓が明るく光ります。ちなみに、このマウスは「IDOL」と名付けられています。

今までにもインターロイキン-1 $\beta$ の性質を利用した炎症可視化技術は他の研究グループによって幾つか開発されてきましたが、この IDOL マウスは性能面でそれらに勝っています。ゆえに今後、IDOL マウスからの発光シグナル観察を通して、疾患や外傷など伴われる炎症の状態や抗炎症薬による効果などが今まで以上に容易かつ正確に調べられるようになると期待されます。そのような解析は、将来、ある疾患の原因究明を進めたり、治療薬の開発に繋がったりと広く社会に貢献できるかもしれません。本研究成果は英国の科学雑誌『Scientific Reports』電子版に 11 月 24 日 10 時（日本時間 11 月 24 日 19 時）掲載予定です。

## 1. 背景

先に述べた通り、炎症は古くから知られる免疫応答の一つであり、放っておいても自然に治まるような軽いものであれば、多くの人が経験しているので、割りと身近であり、深刻には感じられていないかもしれません。ただ一方で、炎症がずっと続いてしまうアトピー性皮膚炎や喘息、関節リウマチなどの難病に苦しむ人もいますし、また近年では慢性化する炎症が動脈硬化やアルツハイマー病、ガン、肥満とも関わりをもつと報じられています。ゆえに基礎医学および臨床医学の両側面から炎症研究が盛んになっています。

そのような中、炎症を細胞および分子のレベルで理解するために、様々な解析技術が利用され始めています。例えば、高機能な顕微鏡を使うことで炎症に関わる免疫系細胞の挙動が観察されていますし、特殊な試薬を用いて炎症応答性タンパク質の活性化も調査できるようになってきました。さらに新しい解析技術や実験材料が開発されれば、より一層研究が進むと思われます。そこで私たちはホタルの発光機構と炎症反応を巧みに組み合わせ、炎症が生じたカラダの部分を炎症が生じた時にだけ明るく光らせることのできる遺伝子組換えマウスの作製を行いました。

## 2. 研究手法と成果

炎症反応が起こるメカニズムについてはまだ不明な部分も多く残されていますが、現在のところ以下のように説明することができます（図1参照）。大抵の場合、キッカケとなるのはカラダを構成する細胞の傷害か菌やウイルスの感染です。その損傷部や感染部の周辺では、壊れた細胞から漏れ出した物質や菌／ウイルスの構成物質がある種の免疫系細胞によって感知され、それに応じて炎症性サイトカインと称されるタンパク質が産生・分泌されます。そして、この炎症性サイトカインは他の周辺細胞および免疫系細胞に作用することで、炎症の特徴である「発赤」や「発熱」、「疼痛」、「腫脹」、「機能障害」を引き起こしたり、細胞漏出物や感染体の無毒化・弱毒化機能を高めたりします。

インターロイキン-1 $\beta$ は炎症性サイトカインの一つとして知られていますが、その産生・分泌を調節する仕組みは他のものとは異なり、次のような2段階で行われています（図2参照）。まず、インターロイキン-1 $\beta$ 遺伝子ではそれ自体のプロモーターに依存してDNAからRNAへの転写が促進されます（第1調節）。ただ、RNAへ転写されたインターロイキン-1 $\beta$ の遺伝子情報からは前駆型インターロイキン-1 $\beta$ タンパク質が翻訳されるため、次に成熟型インターロイキン-1 $\beta$ タンパク質への変換が必要となります（第2調節）。これにはタンパク質を切断する特殊な酵素複合体（インフラマソームとよばれる）が関わります。細胞外へ分泌されて炎症反応を引き起こすのは、基本的に成熟型のものとなります。

以上のことを踏まえ、まず私たちはホタル由来のルシフェラーゼ遺伝子にマウス由来のインターロイキン-1 $\beta$ 遺伝子と市販されている分解シグナル遺伝子を図3のように順に連結し、それをインターロイキン-1 $\beta$ のプロモーター制御下においた人工遺伝子を作成しました。この人工遺伝子を持つマウスで炎症が起きるような状況のとき、プロモーターは活性化するので制御下にあるルシフェラーゼ遺伝子の転写は促進されます。その後、翻訳されるルシフェラーゼタンパク質はインターロイキン-1 $\beta$ タンパク質に作用するインフラマソームのために連結されていた分解シグナルから切り

離され安定的に維持されます。逆に炎症がないような状況のときには、プロモーターは活性化しないので、ルシフェラーゼ遺伝子の転写も促進されません。また僅かに生じた転写産物からルシフェラーゼタンパク質が翻訳されたとしても、それは分解シグナルが連結されたままとなるので積極的に分解されます。つまり、この人工遺伝子は炎症に応じてルシフェラーゼタンパク質の量を厳密にコントロールできるのです。

説明が前後しましたが、ルシフェラーゼは生物発光反応を触媒する代表的な酵素として知られています。最近では、遺伝子やタンパク質の発現および活性化レベルを測定するための指標（レポーター）として様々な生命科学研究の場で利用されています。例えば、ルシフェラーゼ遺伝子を導入したガン細胞をマウスに移植し、発光基質であるルシフェリンを同じマウスに注射すれば、ガン細胞の増殖や転移の様子が発光シグナルとして観察できます。

このような知見を活かし、実際 IDOL マウスにルシフェリンを注射したところ、何の処理も施していないものでは、ほとんど発光シグナルを捉えることができませんでしたが、全身性の急性炎症反応を引き起こすことが知られている薬剤を事前に処理したものは、体の広い範囲から強い発光シグナルを得ることができました（図4）。また、肝炎を引き起こすような状態では肝臓が、膵炎を引き起こすような状態では膵臓が明るく光ることも確認できました（図5）。この結果は「生きているマウスで炎症を検出するための新たな方法が確立された」ことを意味しています。

### 3. 意義と今後の展望

これまでもインターロイキン-1 $\beta$ を含む炎症性サイトカインは炎症の検査において利用されてきました。ただ、その際は採血や外科的処置による体組織の部分的回収が必要であり、さらに炎症性サイトカイン量を測定するには面倒な細かい作業を繰り返し行わなければなりません。しかし、私たちが今回開発したマウスを用いれば、ルシフェリンを注射後に暗いところで写真を撮るだけで炎症およびインターロイキン-1 $\beta$ の検査ができます。また、私たちの技術ではインターロイキン-1 $\beta$ の2段階調節を両方とも利用しているためなのか、発光から得られるデータと本来のインターロイキン-1 $\beta$ から得られるデータに高い整合性が見られます。一般に簡単で正確なデータが得られる解析技術の開発は研究をスピードとコストの面から支えることとなります。この IDOL マウスで言えば、疾患や外傷などに伴われる炎症の状態や抗炎症薬による効果などを調べる研究が今まで以上に加速されると期待されます。そのような研究は、将来、ある疾患の原因究明を進めたり、治療薬の開発に繋がったりと広く社会に貢献できるかもしれません。

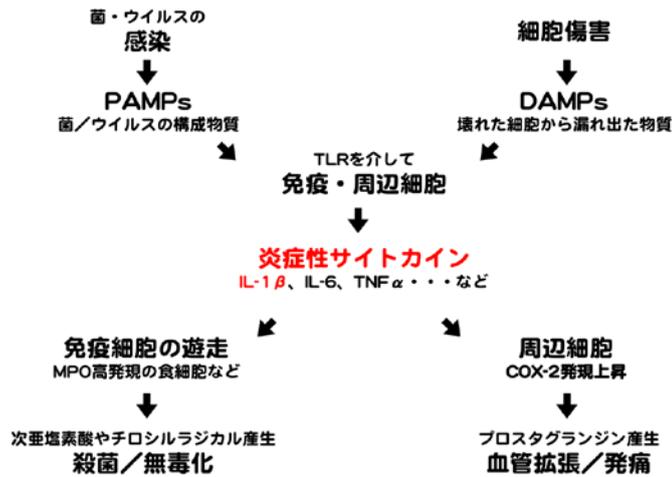


図1；炎症反応が起こるメカニズム

大抵の場合、炎症のキッカケとなるのはカラダを構成する細胞の傷害か菌やウイルスの感染です。その損傷部や感染部の周辺では、壊れた細胞から漏れ出した物質や菌／ウイルスの構成物質がある種の免疫系細胞によって感知され、それに応じて炎症性サイトカインと称されるタンパク質が産生・分泌されます。そして、この炎症性サイトカインは他の周辺細胞および免疫系細胞に作用することで、炎症の特徴である「発赤」や「発熱」、「疼痛」、「腫脹」、「機能障害」を引き起こしたり、細胞漏出物や感染体の無毒化・弱毒化機能を高めたりします。

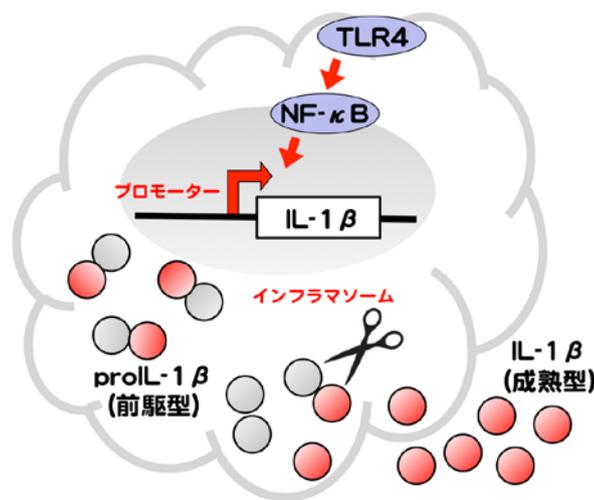


図2；インターロイキン-1βの産生・分泌を調節する仕組み

インターロイキン-1β (IL-1β) の産生・分泌を調節する仕組みは非常に特徴的で2段階の生体反応を必要とします。1段階目はプロモーターに依存する転写活性化で、2段階目はインフラマソームを通じたタンパク質切断です。IL-1βは前駆型として翻訳され、タンパク質切断を経て成熟型になり、細胞外へ分泌されます。

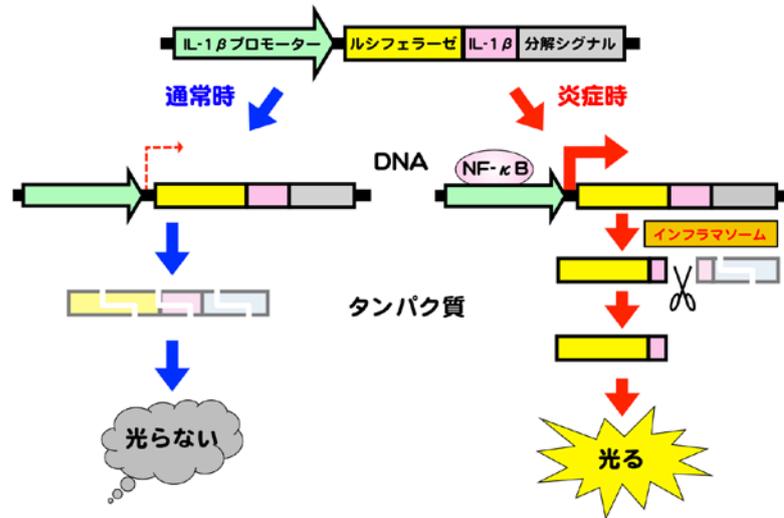


図3 ; 新たに開発した IDOL システムの概念図

IL-1 $\beta$ のプロモーターでルシフェラーゼ遺伝子を転写できるようになっています。加えて、そのルシフェラーゼには IL-1 $\beta$ の部分領域と市販されている分解シグナルが連結されています。炎症が起きない状況のとき IL-1 $\beta$ のプロモーターはほとんど活性化しないのでルシフェラーゼ遺伝子の転写も起こりません。仮に弱い転写が生じてもピンク色の IL-1 $\beta$ 部分を介して連結されている分解シグナルにより積極的に細胞内消化されるので、この遺伝子を持っていてもマウスは光りません。逆に炎症が起こる状況のときは IL-1 $\beta$ のプロモーターが活性化される上に、インフラマソームによってピンク色の IL-1 $\beta$ 部分が切断されるため、ルシフェラーゼは分解シグナルから切り離されます。この場合、ルシフェラーゼは積極的な細胞内消化の対象から外れるので、この遺伝子を持ったマウスは光ることになります。

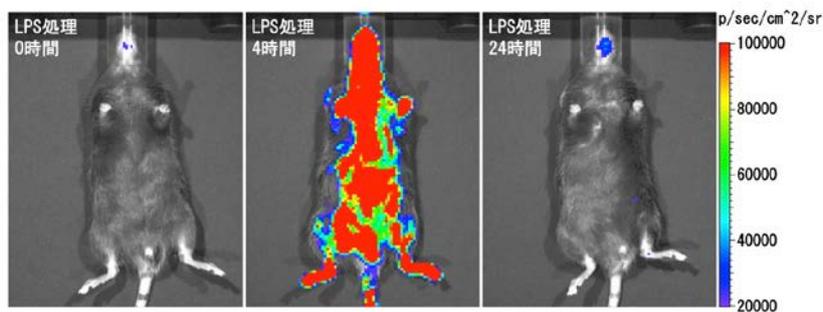


図4 ; 急性炎症を誘発させた IDOL マウスの全身写真

左からグラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖 (LPS) を注射して0時間、4時間、24時間後の IDOL マウスから発せられる発光シグナルを示しています。LPS 注射直後では IL-1 $\beta$  がまだ活性化されず、発光シグナルも殆ど検出されません。しかし4時間後には十分に IL-1 $\beta$  が活性化され、強い発光シグナルが検出されます。但し、24時間も経つと IL-1 $\beta$  の活性化が鎮まり、発光シグナルも検出されづらくなります。ちなみに写真のマウスは同一個体です。

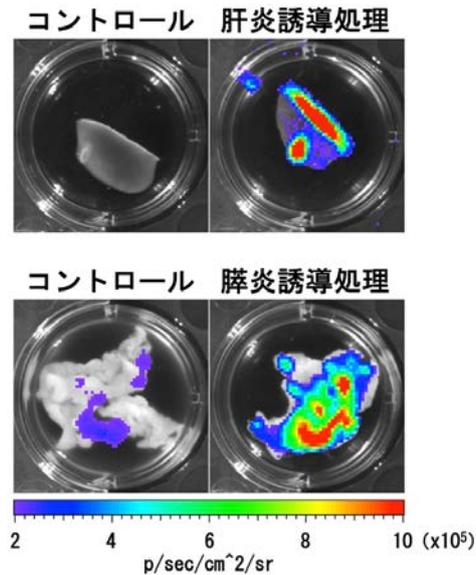


図5；肝炎および脾炎を誘発させた IDOL マウスの肝臓組織および脾臓組織写真

上段が肝臓組織、下段が脾臓組織の写真になります。肝炎を誘発させた IDOL マウスの肝臓組織からは強い発光シグナルが検出されます。脾炎を誘発させた IDOL マウスの脾臓組織からは強い発光シグナルが検出されます。コントロールでは何の炎症誘発処理も施していません。ちなみに写真は載せていませんが、肝炎を誘発させた IDOL マウスの脾臓組織や脾炎を誘発させた IDOL マウスの肝臓組織の発光シグナルはコントロールと同等レベルでした。

#### 論文情報

タイトル (訳) ; Transgenic mouse model for imaging of interleukin-1 $\beta$ -related inflammation *in vivo* (インターロイキン-1 $\beta$ に関連した炎症の生体イメージングのための遺伝子組換えマウスモデルの開発)

著者 ; 岩脇隆夫、赤井良子、及川大輔、豊嶋孝恵、吉野麻由子、鈴木みつ美、竹田直樹、石川智夫、片岡洋祐、山村研一

掲載雑誌 ; Scientific Reports

本件に関しますお問い合わせ先

(研究について)

国立大学法人群馬大学

大学院医学系研究科教育研究支援センター

講師 岩脇 隆夫 (いわわき たかお)

(取材対応窓口)

国立大学法人群馬大学

昭和地区事務部総務課広報係

係長 池守 善洋 (いけもり よしひろ)

電話 : 027-220-7895

FAX : 027-220-7720

E-mail : [m-koho@jimu.gunma-u.ac.jp](mailto:m-koho@jimu.gunma-u.ac.jp)