



Title	ヒト単球・マクロファージにおけるTRPV4の機能解析
Author(s)	渥美, 友紀子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/92110
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （ 渥 美 友 紀 子 ）	
論文題名	ヒト単球・マクロファージにおけるTRPV4の機能解析
論文内容の要旨	
我々の体は、好中球、単球、B細胞、T細胞などに代表される免疫細胞の働きにより、病原微生物などの感染を防いでいる。特に、マクロファージは貪食によって異物を取り込み、細胞内で消化することで異物の排除に働くとともに、ケモカインやサイトカインを産生し、ほかの免疫細胞を呼び寄せ、活性化させる役割を果たす。さらに真皮マクロファージは、組織固着性の組織球と組織を動き回ることのできる単球由来のマクロファージが存在することが報告されている。皮膚に存在するマクロファージとして、表皮に存在するランゲルハンス細胞、真皮マクロファージなどが知られている。近年、マクロファージが発現するサイトカインのパターンにより、それらの性質をM1とM2タイプに分けることが一般的に浸透している。炎症性サイトカインを多く産生する古典的活性化型のマクロファージをM1マクロファージ、IL-10などの抑制性サイトカインの産生力が高いタイプのマクロファージを選択的活性化型のM2マクロファージと呼び、この2つの状態を周囲の環境に応じて行き来していると考えられている。皮膚に定常的に存在する組織常在性マクロファージは、機能的にM2タイプである。通常、マクロファージは外来抗原などを貪食により排除し、恒常性の維持に役立っているが、一方で接触性皮膚炎や、アレルギー性皮膚炎などの炎症性疾患の発症にも関与していることが報告されている。アトピー性皮膚炎（atopic dermatitis、AD）では、病変部へのマクロファージの集積や、マクロファージをはじめとする免疫細胞によるサイトカイン過剰産生が報告されている。このようにマクロファージ機能の異常はADなどの発症・進行に関与するが、細胞外環境や細胞内シグナルがマクロファージの機能を制御するメカニズムは完全には解明されていない。 Transient Receptor Potential（TRP）チャネルは、化学刺激だけではなく、温度や機械刺激、電位変化などの物理刺激にも応答することができる非選択的陽イオンチャネルである。1997年にカプサイシン受容体であるTransient Receptor Potential Vanilloid 1（TRPV1）が直接熱を感知して活性化することが発見され、感覚に関与する受容体ではないかと大きな注目を集めるようになった。2022年現在、ヒトにおいては27種類のTRPチャネルが同定され、その機能が報告されている。TRP遺伝子変異による遺伝性疾患だけでなく、後天的なTRPチャネルの異常が後天性疾患やがんの発症につながることもあり、TRPチャネルが組織の恒常性維持に重要であることが示唆されている。皮膚においても、様々な細胞にTRPチャネルが発現しており、表皮の分化、増殖、バリア機能、皮膚免疫など様々な機能が報告されている。また、皮膚疾患における発現の変化なども報告されている。TRPチャネルのうち、27～35℃で活性化するCa²⁺透過性の高い非選択的陽イオンチャネルであるTransient Receptor Potential Vanilloid 4（TRPV4）は、皮膚、肺、脳など全身の多くの細胞に発現している。TRPV4はAnoctamin 1（ANO1）や、Angiotensin II receptor type Iなど他のチャネルと相互作用することで、様々な生理機能を発揮し、組織の恒常性維持機能を担うことが示唆されている。皮膚においては、TRPV4はケラチノサイトの細胞間結合の形成に関与し、TRPV4活性化は皮膚バリア機能の形成と回復に重要であると報告されている。また、TRPV4ノックアウトマウス由来マクロファージをLPS刺激した条件では、炎症性サイトカインであるIL-1βの産生量が野生型マクロファージに比べて増加する一方、抗炎症性サイトカインであるIL-10が減少したという報告がある。これらの報告から、TRPV4は様々な条件に応じてサイトカイン産生量を調整し、免疫制御および組織恒常性維持、特に皮膚の恒常性維持を担う可能性が示唆される。 そこで私は、ヒト皮膚に存在するマクロファージに着目し、TRPV4がマクロファージの機能を制御しているのではないかと仮説を立てた。しかし、ヒト組織中に存在するマクロファージはその数の少なさや単離方法の難しさから実験に使うことは容易ではなく、ヒトマクロファージにおけるTRPV4機能と皮膚免疫疾患との関連の詳細は不明である。そこで、Human protein atlasデータベースを用いて免疫細胞におけるTRPチャネルの発現をスクリーニングしたところ、TRPV4がマクロファージ前駆体である単球に高発現していることが判明した。そこで、本研究ではヒト末梢血から採集した末梢血単核細胞（PBMC）より単離した初代単球、およびヒト初代単球から分化誘導したマ	

クロファージにおけるTRPV4の機能を評価した。本研究において、ヒト単球・マクロファージにおけるTRPV4の活性化は、LPSにより誘導されるIL-1 β 発現を抑制することを明らかにした。また、TRPV4の活性化はホスファターゼであるカルシニューリンを活性化し、NLRP3発現の減少とNF κ Bシグナル経路の抑制を誘導した。また、単球からマクロファージを分化させる際にTRPV4を活性化すると、GM-CSF刺激で誘導したM1型マクロファージへの分化が抑制された。一方で、M-CSF刺激で誘導したM2型マクロファージへの分化は抑制されなかった。さらに、ADではヒト健常皮膚と比較して、M1型であるiNOS陽性／TRPV4陰性の真皮マクロファージの数が有意に増加していることが観察された。これらの結果は、TRPV4の活性化がマクロファージにおける炎症性サイトカイン発現の抑制と炎症性マクロファージへの分極を制御するという点から、恒常性維持におけるマクロファージの機能制御にTRPV4が関連していることを示唆し、またTRPV4が炎症抑制の創薬ターゲットとなる可能性を提起している。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （ 渥 美 友 紀 子 ）		
	（職）	氏 名
論文審査担当者	主 査	招へい教授
	副 査	教授
	副 査	教授
	副 査	教授
論文審査の結果の要旨 アトピー性皮膚炎は、特に先進国で患者が増加し、多くの人々のQOLを低下させている難治性の皮膚疾患である。外用薬や内服薬の治療の対象となるが、疾患の程度によっては完治が難しく慢性的な疾患となる。ステロイド外用薬などの対症療法では副作用もあり、新たな治療薬が望まれている。一方、温度感受性受容体の一種である Transient Receptor Potential Channels Vanilloid 4（TRPV4） は体温付近に温度活性化閾値を持ち、物理的な刺激にも応答することから、様々な臓器や細胞で、それらの機能を調節していることが明らかになってきている。表皮角化細胞においても皮膚のバリア機能を調節することが報告されているが、ヒト表皮付近に存在するマクロファージにおける役割は知られていなかった。 本論文は、ヒト末梢血から単離された単球においてTRPV4の発現、炎症性サイトカインの分泌の調節をしている可能性を見出し、そこから実験的に分化させた、M1マクロファージ、M2マクロファージにおいてもTRPV4が機能的に発現し、炎症性サイトカインの分泌を制御していることを明らかにした。さらに、IL-1βに着目し、LPSによって促進される細胞からの分泌がTRPV4の活性化剤によって抑制されることを、上流の因子であるカルシニューリンやNLRP3を含めて明らかにした。加えて、TRPV4の活性化は単球からM1マクロファージへの分化を抑制することを見出し、アトピー性皮膚炎の患者の皮膚においてTRPV4陽性のM1マクロファージの割合が少なくなることを見出したことから、慢性皮膚炎症においてTRPV4の活性化は炎症の抑制に働く可能性を見出した。これらの結果は、TRPV4の活性化剤が慢性皮膚炎症の治療薬になり得る可能性を示していると思われる。 以上、本研究によって、難治性皮膚疾患であるアトピー性皮膚炎を含めた慢性皮膚炎症において、温度受容体の一つであるTRPV4が創薬ターゲットになりうる新たな可能性を示したことから、この論文の内容は博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。		