生体炎症のキーレギュレーター EPRAP

藤川理沙子, 樋口 聖, 中辻 正人, 安井 美加, 横出 正之, 南 学

1. EPRAP とは

EP4 receptor-associated protein (EPRAP) は, プロスタグランジン E₂ (PGE₂) type 4 (EP4) 受容体の新規結合タンパク質としてマクロファージで単離されたタンパク質であり(1), 線虫の性決定遺伝子 FEM-1 のオルソログである Fem1a としても知られている. 細胞を用いた検討で, EPRAP がマクロファージの PGE₂-EP4 を介した抗炎症シグナルに重要であることや, EPRAP がマクロファージで EP4 受容体及び p105 と直接結合し, p105 のリン酸化と分解を抑制し, MEK-ERK の活性化を抑制することが明らかにされている(2). EPRAP がヒトの頸動脈アテロームに発現していることも確認されており(1), 慢性炎症性疾患の治療ターゲットとなる可能性が考えられた.

EPRAP は脳, 肺, 大腸など広く発現しているが, 生体における機能は不明であった. そこで我々は, 生体炎症における EPRAP の機能を明らかにするため, EPRAP 欠損マウス及び過剰発現マウスを作製し, 検討を行った.

2. EPRAP はマクロファージで炎症を抑制し腸炎・肺炎を抑制する

マクロファージの炎症応答が病態の発症や進行に関わる慢性炎症疾患に着目し, 腸炎モデルと肺炎モデルを用いて EPRAP の機能を検討した. まず, デキストラン硫酸誘導性腸炎モデルマウスを用い, EPRAP 欠損により腸炎症が悪化することを明らかにした(3). また EPRAP 欠損マウスから骨髓移植した野生型マウスで腸炎症が悪化したこと, cd68 下流に EPRAP を過剰発現させたトランスジェニックマウスで腸炎症が改善したことから, マクロファージの EPRAP が腸炎症抑制に重要であることが考えられた. さらに EPRAP 欠損マウスでは EP4 受容体アゴニストの抗炎症作用

が示されなかったことから, EP4 を介したシグナルで EPRAP が重要な役割を担っていることが分かった. EP4 アゴニストは炎症抑制の他に cAMP 上昇を介した下痢などの副作用があるが, EPRAP は cAMP 上昇に関与しないため, より副作用の少ない治療ターゲットとなる可能性がある.

次にブレオマイシン誘導性肺炎モデルを用いて, 腸炎モデルと同様に EPRAP 欠損により肺炎症が悪化することを明らかにした(4). EPRAP 欠損マウスでは炎症刺激後にマクロファージで MEK-ERK が活性化していた. EPRAP は無刺激状態で高度にリン酸化されていることが報告されているが, 翻訳後修飾と抗炎症作用の関係は不明であった. そこで我々は EPRAP の抗炎症作用における翻訳後修飾の重要性を調べるため, EPRAP ミュータントプラスミドを作成した. EPRAP の 108 および 608 番目のセリンをアラニンに変換し, リン酸化を受けないプラスミドをトランスフェクトした細胞では炎症がより抑制された. また, 肺胞マクロファージで EPRAP と脱リン酸化酵素 PP2A が結合していたことから, EPRAP が PP2A により 108 及び 608 番目のセリンが脱リン酸化されることで抗炎症作用を発揮する可能性が考えられた. これらの部位が慢性炎症疾患の治療ターゲットとなる可能性がある.

3. EPRAP はミクログリアで炎症を促進する

ミクログリアは中枢に常在するマクロファージとも呼ばれ, 脳で炎症応答を担う細胞である. 脳内炎症は神経変性疾患の病態進行に寄与していることから, ミクログリアがこれらの疾患の治療ターゲットとなる可能性があり, ミクログリアの活性化メカニズムの解明が望まれている. 我々は, EPRAP が脳で大脳皮質や海馬など様々な部位に発現し, 特にミクログリアとアストロサイトに発現していることを明らかにした(5). LPS 腹腔内投与実験及びカイニン酸脳室内投与実験の

キーワード: EPRAP, マクロファージ, ミクログリア

京都大学大学院 医学研究科 臨床創成医学分野 (〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町)

E-mail: fujirisa@kuhp.kyoto-u.ac.jp 原稿受理日: 2017 年 5 月 8 日

Title: EPRAP: a key regulator of inflammation

Author: Risako Fujikawa, Sei Higuchi, Masato Nakatsuji, Mika Yasui, Masayuki Yokode, Manabu Minami

結果, EPRAP 欠損マウスでミクログリアの活性化が抑制されていた。初代培養ミクログリア細胞を用いた検討により, EPRAP はマクロファージとは逆に炎症促進に働き, MAPK 経路の 1 つ, MKK4-JNK 経路を介していることが分かった。EP4 アゴニストは野生型及び EPRAP 欠損ミクログリアで同様に抗炎症作用を示したことから, ミクログリアの EPRAP は EP4 シグナルと関連していない可能性が高い。マクロファージとミクログリアで EPRAP の機能が異なる原因は明らかにできていないが, EP4 受容体関連タンパク質の発現の違いが原因の一つであると考えている。マクロファージとミクログリアは遺伝子発現に相同性の高い部分が多いものの, それぞれ特異的に発現している遺伝子も存在する(6)。EPRAP は分子内にアンキリンリピートと呼ばれる分子間相互作用に関わる配列を持っており, EP4 受容体以外のタンパク質と相互作用し, ミクログリア特異的機能に影響している可能性もある。

4. 今後の可能性

EPRAP は, 末梢のマクロファージでは MEK-ERK 経路の抑制による炎症抑制作用, 中枢のミクログリアでは MKK4-JNK 経路の促進による炎症促進作用を示し, マクロファージとミクログリアで相反する作用を持つことが明らかになった(図 1)。さらなる EPRAP の機能解析や結合タンパク質の解明が, 炎症に関わる疾患の病態解明, 新たな治療法開発に繋がるであろう。

さらに EPRAP は炎症以外にも関わる多機能な分子である可能性もある。EPRAP 欠損マウスの行動解析を行った結果, プレパルスインヒビションの低下やう

EPRAP の作用

図 1 炎症に対する EPRAP の作用

マクロファージの EPRAP は EP4 受容体依存的に MEK-ERK 経路を介して炎症抑制に作用するのに対し, ミクログリアの EPRAP は EP4 受容体非依存的であり, MKK4-JNK 経路を介して炎症促進に働く。

つ様行動の若干の増加など, 精神疾患様の行動異常を示すことを明らかになった(7)。これらの異常は神経伝達物質モノアミンの異常との関連が報告されているため, 脳内モノアミン定量を測定したところ, EPRAP 欠損マウスでは海馬や前頭前野でノルアドレナリン量が少ないことが分かった。神経伝達物質を調節するアストロサイトの EPRAP がこれらの精神異常に関与している可能性があると考え, 今後も機能解析を進めていく。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Takayama K, et al. Circ Res. 2006;98:499-504.
- 2) Minami M, et al. J Biol Chem. 2008;283:9692-9703.
- 3) Nakatsuji M, et al. PLoS Genet. 2015;11:e1005542.
- 4) Higuchi S, et al. J Immunol. 2016;197:4436-4443.
- 5) Fujikawa R, et al. Am J Pathol. 2016;186:1982-1988.
- 6) Hickman SE, et al. Nat Neurosci. 2013;16:1896-1905.
- 7) Fujikawa R, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2017;486:584-588.