

平成 28 年 6 月 24 日

## 可溶性 Siglec-9 は、M1 マクロファージ活性抑制を介して マウスコラーゲン誘発性関節炎を抑制する

名古屋大学医学部附属病院（病院長・石黒直樹）整形外科・高橋伸典（たかはしのぶのり）病院講師、松本拓也（まつもとたくや）医員は、同大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）咀嚼障害制御学・山本朗仁（やまもとあきひと）准教授、同大学環境医学研究所・澤田誠（さわだまこと）教授、中部大学生命健康学部・古川鋼一（ふるかわこういち）教授等との共同研究により、関節リウマチの動物モデルに対して可溶性 Siglec-9 というシアル酸認識蛋白を投与することにより、関節炎の発症を予防し、関節炎の重症度を軽減させることが出来ることを明らかにしました。

関節リウマチ（RA）は罹患率が 1% に及ぶ自己免疫疾患であり、慢性的な破壊性関節炎や多臓器へ障害を起こすことが知られています。RA の薬物治療は近年飛躍的に進歩していますが、それでもなお既存薬への多剤無効症例が存在することから、新規作用機序の RA 治療薬を開発することは極めて重要です。既存薬と異なる新しい作用機序をもつ RA 治療薬探索の一環として、RA の動物モデルであるコラーゲン誘発性関節炎（CIA）マウスに対し可溶性 Siglec-9 を投与したところ、関節炎の発症率や関節炎スコアを著明に抑制し、血液中の炎症性サイトカイン TNF $\alpha$  の濃度を抑制しました。また、薬物動態の確認のための生体イメージング実験により、可溶性 Siglec-9 は関節炎部位へ強く集積することがわかりました。作用機序を細胞モデルで検証したところ、炎症型マクロファージによるサイトカイン（TNF $\alpha$ 、IL-6 など）の産生が、可溶性 Siglec-9 により抑制されることがわかりました。

この発見は、可溶性 Siglec-9 が既存の RA 治療薬とはまったく異なるメカニズムの RA 治療薬となる可能性を示唆するものです。今後は、臨床応用のため安全性の確認や、他の RA 治療薬との併用効果の検証など更なる研究を行っていく予定です。

本研究成果は、英国科学誌「Arthritis Research & Therapy」（2016 年 6 月 7 日の電子版）に掲載されました。

## 可溶性 Siglec-9 は、M1 マクロファージ活性抑制を介してマウスコラーゲン誘発性関節炎を抑制する。

### ポイント

- 関節リウマチの動物モデル（コラーゲン誘発性関節炎）に対し、シアル酸認識蛋白の一つである可溶性 Siglec-9 を投与すると、関節炎の発症率や重症度が抑制された。
- その作用機序として、可溶性 Siglec-9 が炎症性マクロファージ（M1 マクロファージ）活性を抑制することがわかった。
- 本研究により、可溶性 Siglec-9 が新規リウマチ治療薬となる可能性が示唆された。

### 1. 背景

Siglec (Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins) 9 は免疫細胞表面に発現する抑制系受容体です。先行研究により、その細胞外ドメインである可溶性 Siglec9 は抗炎症作用を持つことが判明しています。本研究では、マウス関節リウマチモデルであるコラーゲン誘発関節炎 (CIA) に対する可溶性 Siglec-9 の抑制効果、および炎症性マクロファージ活性に対する抑制効果を検証しました。

### 2. 研究成果

DB1J マウス（実験的自己免疫的関節炎に感受性が高いため、関節炎モデルに頻用されるマウスの一種）による CIA モデルに可溶性 Siglec9 を経静脈投与し、関節炎の累積発症率、関節炎スコア、血清 TNF $\alpha$  濃度を評価し、同時に膝関節、足関節の組織切片の炎症スコアを評価しました。またマウスマクロファージ (RAW264.7 細胞、腹腔マクロファージ) を Siglec9 と共培養後、炎症誘発物質 (INF $\gamma$ ) を投与し、炎症性マクロファージ (M1) マーカー (TNF $\alpha$ 、IL-6、iNOS)、抑制系マクロファージ (M2) マーカー (CD206、Arginase1、IL-10) の発現を評価しました。Siglec9 投与群 (S 群) ではコントロール CIA 群 (C 群) と比較して、関節炎の累積発症率、関節炎スコア、組織スコア、血清 TNF $\alpha$  濃度が有意に低い結果となりました。組織評価において、C 群は高度な炎症性細胞浸潤、滑膜増生、骨軟骨破壊像を認めましたが、S 群ではわずかな炎症細胞の浸潤を認めるのみでした。また、薬物動態の確認のための生体イメージング実験にて、関節炎部位へ可溶性 Siglec-9 が強く集積していることが確認されました。炎症誘発したマクロファージにおける M1 マーカーの発現は、mRNA、蛋白共に可溶性 Siglec9 によって濃度依存的に抑制されましたが、M2 マーカーの発現の変化はみられませんでした。また、細胞内シグナル経路においては NF $\kappa$ B のリン酸化抑制が見られました。これらの抑制効果は、共培養前に酵素の一種であるシアリダーゼにより細胞表面のシアル酸除去処理を行うと失われてしまいました。

図 1

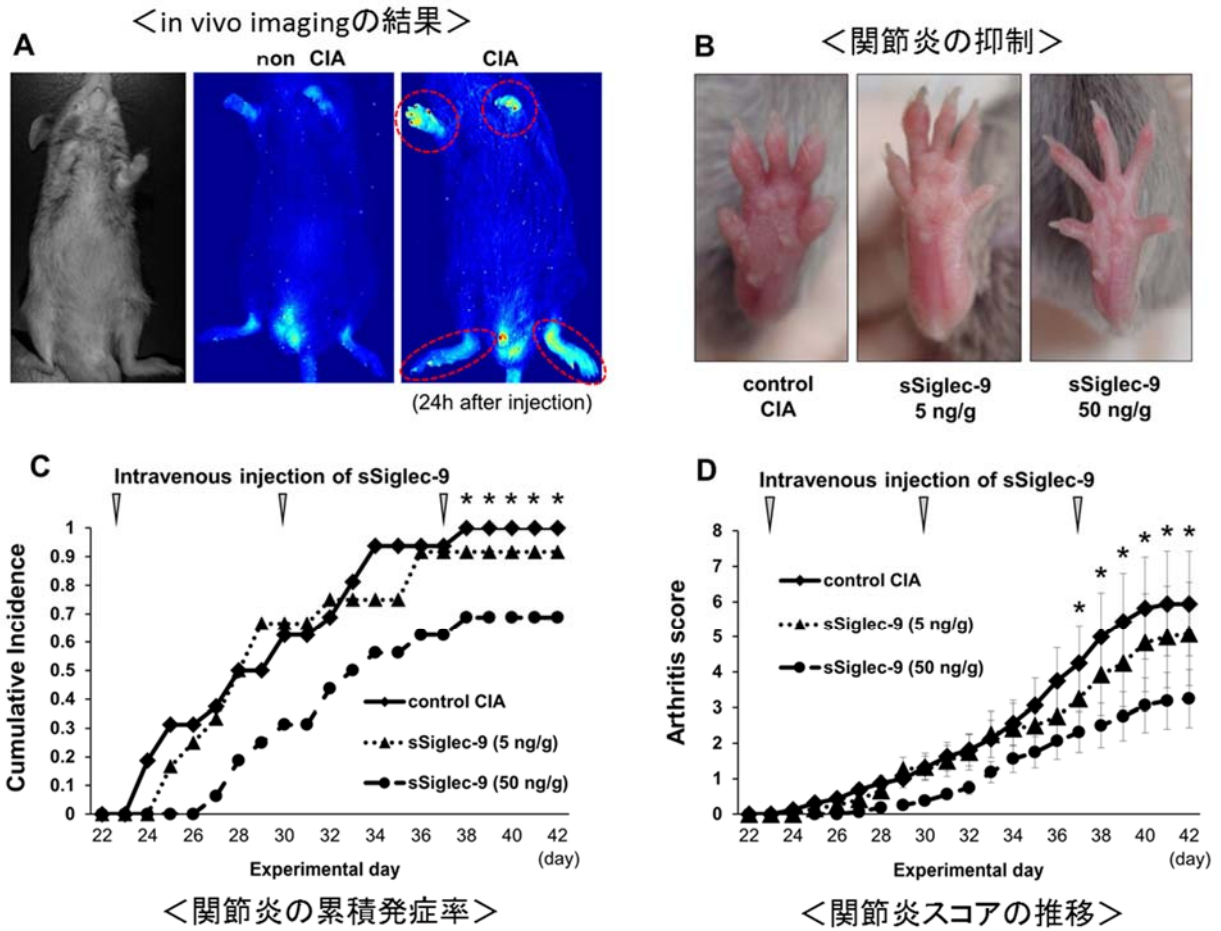
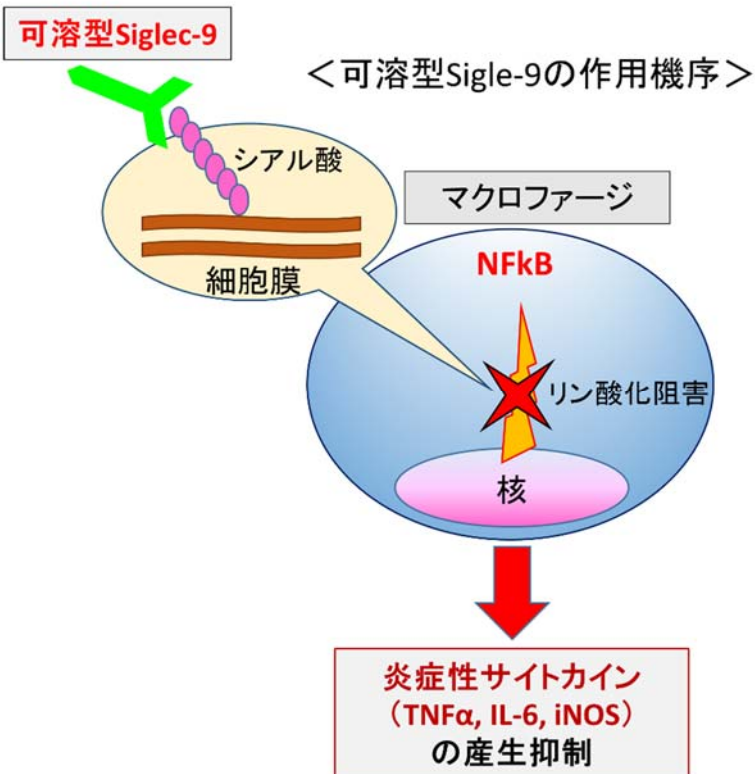


図 2



### 3. 今後の展開

本研究により、可溶性 Siglec-9 が動物関節リウマチモデルに対し有効であり、その作用機序として炎症性マクロファージ（M1）活性を抑制することが確認されました。関節リウマチの治療は生物学的製剤（抗 TNF $\alpha$  阻害剤、抗 IL-6 阻害剤）の登場により画期的な飛躍を遂げましたが、それでもなお多剤無効例が存在します。これらに対して、可溶性 Siglec-9 は新しい作用機序の RA 治療薬としての臨床応用が期待されます。しかし、その受容体や生体内における作用機序、安全性にはまだ不明な点が残されており、さらなる検証を行っていきます。

### 4. 用語説明

- CIA, collagen-induced arthritis; 動物関節リウマチモデル。
- RA, rheumatoid arthritis; 関節リウマチ。自己免疫病の一つであり、全身の骨関節破壊を生じ多臓器にわたる合併症を引き起こすこともある
- Siglec-9 ; Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins-9 であり、免疫系細胞表面に発現している膜型受容体の一つ。

### 5. 発表雑誌

Matsumoto T, Takahashi N, Kojima T, Yoshioka Y, Ishikawa J, Furukawa K, Ono K, Sawada M, Ishiguro N, Yamamoto A. Soluble Siglec-9 suppresses arthritis in a collagen-induced mouse model and inhibits M1 activation of RAW264.7 macrophages. *Arthritis Research & Therapy*, June 7, 2016.

### English ver.

[http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps\\_data/material/nu\\_medical\\_en/res/ResearchTopics/2016/siglec9\\_20160624en.pdf](http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/material/nu_medical_en/res/ResearchTopics/2016/siglec9_20160624en.pdf)