

鉄動態に着目した原発性胆汁性胆管炎の病態解明と治療法開発

熊本大学大学院生命科学研究部・教授 諸石 寿朗



原発性胆汁性胆管炎は病因が未解明の慢性胆汁うっ滞性肝疾患であり、胆汁うっ滞に伴い肝細胞の破壊と線維化を生じ、最終的には肝硬変から肝不全、死に至る難病である。近年の研究において炎症や鉄代謝異常との関連が報告されたものの、その発症原因は不明で有効な治療法も少ない。本研究では、申請者らが独自に所有する遺伝子改変マウスを利用することにより、原発性胆汁性胆管炎における鉄動態の変容と炎症応答、肝線維化の因果関係と病態生理を明らかにし、原発性胆汁性胆管炎の治療法開発に向けた新たな知見を得ることを目的として研究を進めた。

(研究の背景)

哺乳類の細胞において、鉄の恒常性は①代謝制御および②動態制御により保たれる。鉄は3価(Fe^{3+})の状態では細胞内に運ばれ、2価(Fe^{2+})に還元されて遊離鉄という反応性に富んだ鉄のプールを形成する。遊離鉄はミトコンドリアへと運ばれヘムや鉄硫黄クラスターなどの鉄補欠分子族へと代謝されるが、過剰な遊離鉄(Fe^{2+})は酸化傷害などの細胞毒性を生じるため、3価に変換されて貯蔵される(図1)。3価鉄は2価鉄に比べて毒性が低い、そのままでは生命活動に利用できないという欠点もある。このように、鉄は鉄補欠分子族への代謝制御や、2価 \rightleftharpoons 3価という動態制御を受け、生体内の恒常性が維持されている。このような背景から、鉄と疾患病態の連関を解析するにあたっては、鉄過剰食や鉄キレート剤の投与といった単純な総鉄量の増減のみならず、2価 \rightleftharpoons 3価という鉄の動態制御にも注目したアプローチが必須となる。申請者らはこれまでの研究において、哺乳動物における鉄代謝/鉄動態が、鉄と直接結合し鉄感知センサーとして働くユビキチンリガーゼFBXL5、および、鉄代謝関連分子の発現量を調節するRNA結合タンパク質IRP2によって厳密に制御されており、この経路が個体発生や臓器の生理機能・病態に必須の役割を担うことを明らかにしてきた。IRP2は鉄の取り込みや貯蔵・排出に関わる鉄代謝関連分子の発現量を調節し、細胞内遊離鉄(Fe^{2+})を増加させる一方で、FBXL5はIRP2を分解することにより細胞内遊離鉄(Fe^{2+})を減少させる働きがある。そのため、組織においてFBXL5またはIRP2を欠失させることにより、鉄動態の変容と組織応答の関係性を調べることが可能となる。

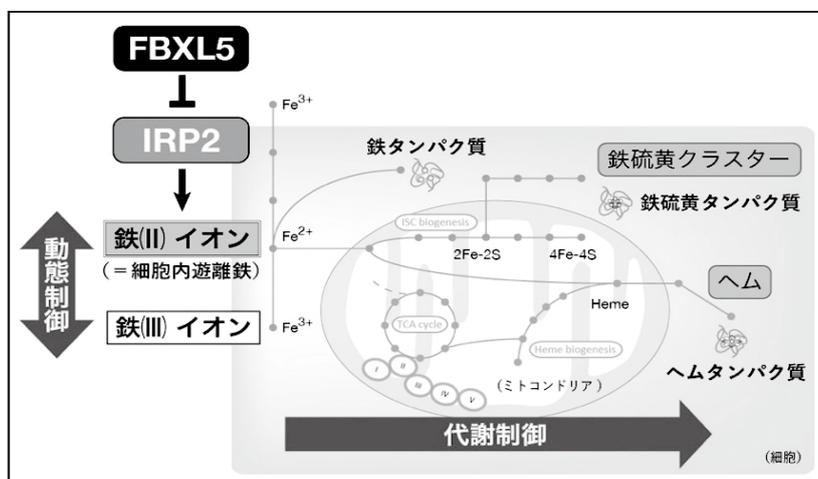


図1 | 生体における鉄の代謝と動態: 細胞内における遊離鉄(鉄[II]イオン)の量は、鉄センサーとして働くユビキチンリガーゼFBXL5、および、鉄代謝関連分子の発現量を調節するRNA結合タンパク質IRP2によって厳密に制御されている。

(研究方法と結果)

鉄動態を変容させる肝臓特異的FBXL5欠損マウスおよびIRP2欠損マウスを利用し、0.1%DDC (3, 5-Diethoxycarbonyl-L, 4-dihydro-2, 4, 6-collidine) 含有食によりマウスに肝傷害を誘導した。DDC含有食は、給餌により著しい胆汁うっ滞を伴う肝傷害とその後の肝線維化を誘導することが知られており、原発性胆汁性胆管炎の病態解析マウスモデルとして用いられている。肝臓特異的FBXL5欠損マウスに0.1% DDC含有食給餌により肝傷害を誘導したところ、野生型マウスと比べて肝線維化の顕著な抑制が認められることがわかった (図2A)。さらに、この線維化の抑制はFBXL5/IRP2二重欠損マウスにおいて解消されたことから、肝臓における鉄動態の変化 (細胞内遊離鉄の増加) が、胆汁うっ滞性肝傷害誘導後の肝線維化、すなわち原発性胆汁性胆管炎の病態改善に寄与することが示唆された。その後のメカニズム解析により、肝臓特異的FBXL5欠損マウスでは線維化を促進する線維芽細胞の活性には変化を認めないものの、線維化を抑制する性質を持った免疫細胞の活性に変化を認め、特にコラーゲンを分解するプロテアーゼMMP9を発現する好中球が多く浸潤してくることがわかった。肝臓特異的FBXL5欠損マウスにMMP9阻害剤を投与した場合は、FBXL5の欠損による肝線維化の抑制が減弱したことから (図2B)、肝臓におけるFBXL5欠損は、MMP9を介した肝組織修復応答を誘導することにより肝線維化を抑制すると考えられた。以上の結果により、肝臓における細胞内遊離鉄の増加は、組織修復応答を促進することにより、原発性胆汁性胆管炎の病態を改善する可能性が示唆された。

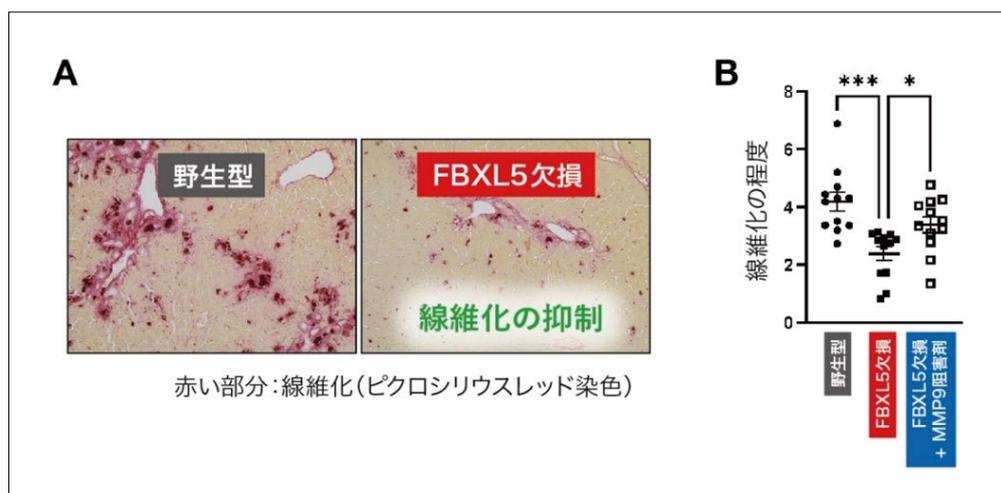


図2 | A 肝臓特異的FBXL5欠損マウスでは胆汁うっ滞性肝傷害誘導後の肝線維化 (赤色に染色) が抑制される。B 肝臓特異的FBXL5欠損マウスにMMP9阻害剤を投与すると肝線維化の抑制が減弱する。

(考察)

本研究では、原発性胆汁性胆管炎の病態について「鉄」をキーワードに解析を進め、原発性胆汁性胆管炎マウスモデルにおける肝線維化の進行が鉄動態に依存しており、そのメカニズムとしてMMP9を中心とした組織修復応答が関与することを明らかにした。今後の研究において、細胞内鉄動態を操作する手法やMMP9を中心とした肝組織修復応答を促進する手法を開発し、本知見を原発性胆汁性胆管炎の新たな治療法開発へと繋げていきたい。

(謝辞)

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました難病医学研究財団ならびに関係の諸先生方に心より深く感謝申し上げます。