

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

G.I.Research (2009.12) 17巻6号:506～512.

【消化器疾患のマイクロRNA発現と調節】
炎症性腸疾患におけるマイクロRNA発現異常の現況を知る

藤谷幹浩, 高後 裕

炎症性腸疾患におけるマイクロRNA
発現異常の現況を知る

藤谷幹浩* 高後 裕*

Summary

炎症性腸疾患 (IBD) においては、複数のマイクロRNA (miRNA) の発現異常が関係していると考えられる。miR-192 は潰瘍性大腸炎で発現が低下しており、MIP-2 α の発現調節を通して炎症の制御に関係していると考えられる。一方、miR-16 や miR-21 は発現が増加しており、サイトカイン分泌の制御などを通して病態に関係していると推測される。また、自然免疫の制御に重要な miR-146, miR-155, miR-223 や獲得免疫制御に重要な miR-142, miR-181a, miR-150 などの miRNA にも注目していく必要がある。miR-146 は TLR-NF- κ B 経路を阻害し、IL-8 や RANTES の分泌を抑制する。miR-155 は TNF- α の発現を誘導する作用をもつ。miR-142, miR-181a, miR-150 は T 細胞の分化に重要であることが明らかにされている。実際には、これらの多数の miRNA が複雑に関連しあって IBD の病態に関与していると考えられる。

Key words

炎症性腸疾患 マイクロRNA 潰瘍性大腸炎 クローン病
自然免疫 獲得免疫

はじめに

ヒトゲノム解析の成果により、多くの蛋白コード遺伝子の機能が解明されたが、同時に、蛋白をコードしない部分から転写される多数のマイクロRNA (miRNA) の存在が浮き彫りとなり、遺伝子発現調節への関与が注目されるようになった。miRNA 研究は、おもに癌組織におけるプロファイリング解析を中心にはじまり、さまざまな臓器において腫瘍の発生・進展に関与することが明らかにされた¹⁾²⁾。一方、最近になって、炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease : IBD) における

miRNA の関与が注目されるようになり、いくつかの疾患において、特定の miRNA の発現異常が指摘されている³⁾。それと並行して、免疫制御に関連する miRNA の研究が進み、自然免疫の制御やリンパ球の分化・成熟に中心的な役割をなす、いくつかの miRNA が同定されるようになった。本稿では、IBD および免疫制御に関係する miRNA の研究について紹介し、今後の miRNA 研究の展望について概説する。

*FUJIYA Mikihiro, KOHGO Yutaka/旭川医科大学内科学講座消化器・血液腫瘍制御内科学分野

1 炎症性腸疾患患者における miRNA の発現異常

IBD における miRNA の発現プロファイルについての報告は少ない。Wu ら⁴⁾は、炎症性疾患、過敏性腸症候群などの腸管組織における 553 個の miRNA 発現を解析し、活動性の潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) 患者において 8 個の miRNA 発現が増加、3 個が低下していることを明らかにした。さらにわれわれは、活動性 UC 患者で特異的に発現が低下していた *miR-192* を HT-29 細胞に過剰発現させた結果、TNF- α にて誘導される Macrophage Inflammatory Peptide-2 α (MIP-2 α) の発現が抑制されたことから、*miR-192* は TNF- α に関係するシグナル系制御にかかわっていると結論づけている。また、活動性 UC 患者において最も大きく増加していた *miR-21* は、CD8 陽性 T 細胞で発現していることが知られており⁵⁾、さらにリポポリサッカライド (LPS) により惹起されたマウス肺炎組織においても発現が増加していることから、広く炎症性疾患の病態に関与する miRNA であると考えられる。TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの 3'UTR を標的とする *miR-16* も活動性 UC で増加しており、炎症性メディエーターの制御を通じて、UC の病態に関与していると推測される。その他に *miR-375*、*miR-422b* の発現低下および *miR-23a*、*miR-24*、*miR-29a*、*miR-126*、*miR-195*、Let-7f の発現増加を認めているが、本疾患の病態における役割については明らかではない。それ以外に、IBD 症例を対象とした miRNA 発現プロファイル解析の報告はないが、われわれは、クローン病類似のマウス腸炎モデルである IL-10 欠損マウスの腸管における miRNA 発現プロファイルを検討し、炎症腸管において 30 以上の miRNA の発現異常を確認している。すなわち、IBD の病態には多数の miRNA が関与しているものと推測され、個々の miRNA の役割と相互の関連性につい

てさらに解析を進める必要がある。

2 免疫機能と miRNA

IBD の成因に免疫機能の障害が関与していると考えられている。したがって、免疫機能の調節にかかわる miRNA のはたらきを理解することは、IBD の病態における miRNA の役割を知るうえで重要となる。免疫機能の制御に関係する代表的な miRNA の作用と標的遺伝子の候補について表 1 に示した。以下に、自然免疫および獲得免疫の制御における miRNA の役割について解説する。

1) 自然免疫

自然免疫系の制御において、複数の miRNA の関与が知られている (図 1)。Taganov ら⁶⁾は、ヒト単球細胞を LPS で刺激して約 200 種類の miRNA の発現を調べ、*miR-146*、*miR-132*、*miR-155* の発現が増加していることを指摘した。そして、*miR-146a* のプロモーター解析から、この miRNA は NF- κ B によって発現が増強されることを示し、さらにその塩基配列から IRAK や TRAF6 の発現を抑制すると推測している。また Perry ら⁷⁾は、IL-1 β によって誘導された *miR-146a* が IL-8 や RANTES の分泌を阻害することを明らかにした。すなわち、*miR-146a* は代表的な自然免疫系の情報伝達経路である TLRs-NF- κ B を抑制的に制御する、いわば negative feedback 機構のはたらきをもつものと考えられる。さらに、*miR-146a* の発現異常が乾癬患者でも認められており³⁾、この miRNA の異常は炎症性疾患の病態に深く関与するものと考えられる (図 1)。

O'Connell ら⁸⁾はマウスのマクロファージを poly (I:C) および IFN- β で刺激し、miRNA の発現を網羅的に解析した結果、*miR-155* 発現が特異的に増加することを突き止め、この miRNA のターゲット遺伝子が Src homology-2 domain-

表 1. 免疫制御に関係するおもな miRNA

miRNA	おもな役割	おもな標的
miR-16	TNF- α の発現を抑制する	TNF- α
miR-17-5p	miR-20a と miR-106a が協働し単球の増殖, 分化, 転移を抑制する	AML-1
miR-17 92 cluster	B 細胞と T 細胞の成長を抑制する	Bim, PTEN
miR-20a	miR-17-5p と miR-106a が協働して単球の増殖, 分化, 成熟を抑制する	
miR-21	B 細胞性リンパ腫, 慢性リンパ球性白血病と潰瘍性大腸炎の発現増加	AML-1
miR-106a	miR-17-5p と miR-20a が協働して単球の増殖, 分化, 成熟を抑制する	AML-1
miR-125b	LPS にて発現が低下する. TNF- α の発現を制御する	TNF- α
miR-146a	TLR-2, -4, -5 の活性化および TNF- α , IL-1 β 曝露によって, マクロファージや気管-肺胞上皮細胞に誘導される. TLRs-TNF 経路のフィードバック機構?	IRAK1, TRAF6
miR-146b	LPS 刺激によってマクロファージに誘導される	IRAK1, TRAF6
miR-155	TNF- α の発現を誘導する. T 細胞の Th1, Th2 分化誘導に関与する	PU. 1, c-Maf
miR-181a	B 細胞の成長と CD4+ T 細胞の選択性, 活性, 感受性の正の調節因子	SHP-2, PTPN22, DUSP5, DUSP6
miR-192	潰瘍性大腸炎での発現増加する	MIP-2 α
miR-223	好中球の増殖と活性の負の調節因子	Mef2c, IGFR

(Lindsay MA et al : Trends Immunol 29 : 343-351, 2008 より改変引用)

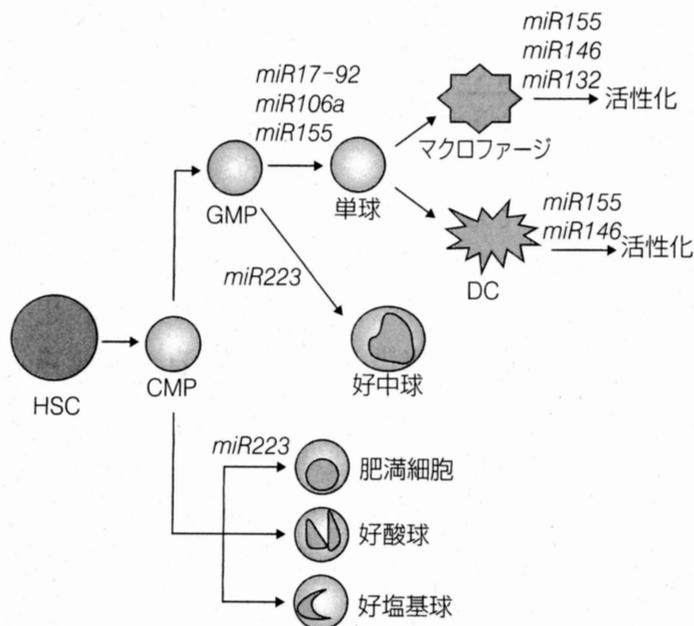


図 1. 自然免疫の制御に関する miRNA

HSC : hematopoietic stem cell, CMP : common myeloid progenitor, GMF : granulocyte monocyte progenitor, DC : dendritic cell

(Bi Y et al : J Cell Physiol 218 : 467-472, 2009 より改変引用)

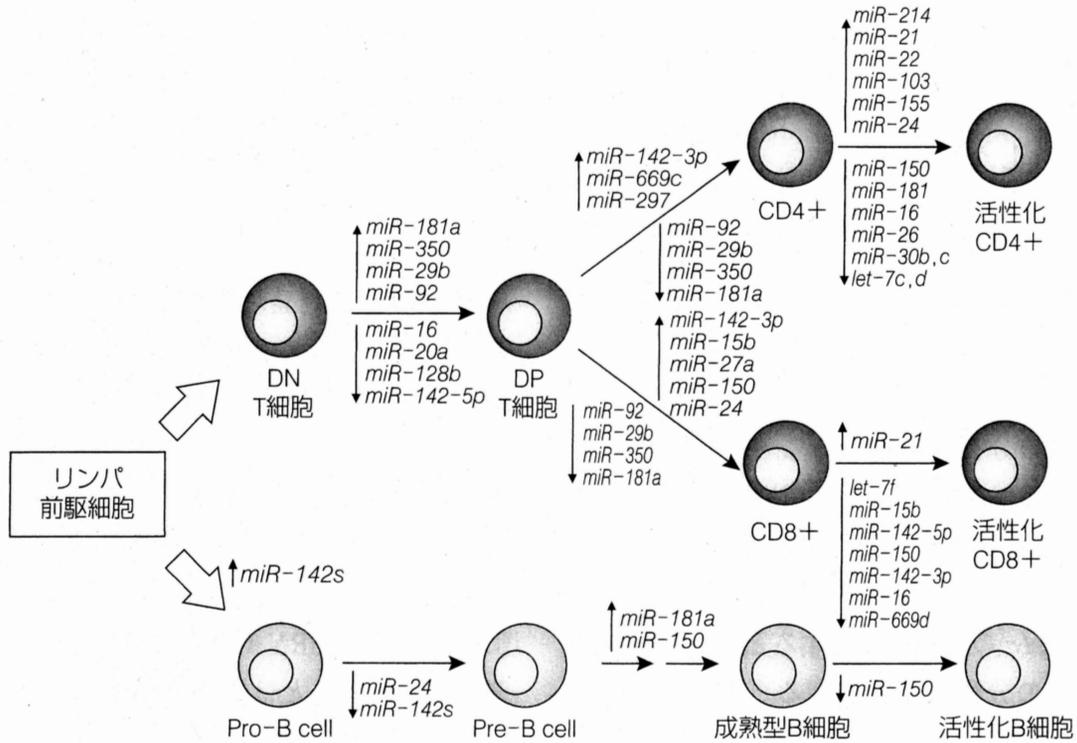


図 2. リンパ球の成熟に関する miRNA

(Sonkoly E et al : *Semin Cancer Biol* 18 : 131-140, 2008 より引用)

containing inositol 5-phosphatase 1であることを示した⁹⁾。さらに Tiliら¹⁰⁾は、*miR-155*のトランスジェニックマウスにおいて、血清中のTNF- α 発現が上昇することを示した。引き続いて、Rodriguezら¹¹⁾は*miR-155*欠損マウスでは正常の免疫反応が失われることを明らかにした。以上から、*miR-155*はTNF- α の発現を介して自然免疫系の制御に重要な役割をもつと考えられる。そのほか、*miR-125b*は非刺激状態のマクロファージに高発現し、LPSによる刺激を受けると発現が低下することから、このmiRNAはマクロファージからのTNF- α 分泌を調節する役割をもつと推測されている¹⁰⁾。*miR-223*は顆粒球の分化に関与していると考えられているが¹²⁾、ノックアウトマウスを用いた検討では、促進作用、抑制作用の両方が報告されており¹³⁾¹⁴⁾、一定の見解は得られていない。また、Moschosら¹⁵⁾はマウス肺にLPS噴霧をおこなってmiRNA発現プロファ

イルを検討し、12個のmiRNAの変化を認めたものの、*miR-146*、*miR-155*の発現には変化がなかったと報告している。すなわち、自然免疫には多くのmiRNAが関与し、外部刺激の種類や性状、さらには個体環境に応じて多様な調節機構が存在すると推測される。

2) 獲得免疫

IBDの成因に獲得免疫の異常が関与していることが広く知られており、UCではTh2優位の、クローン病ではTh1優位の炎症性変化が認められることやregulatory T細胞(Treg)の関与が明らかにされている¹⁶⁾¹⁷⁾。最近、これら獲得免疫系に関与するmiRNAがあいついで同定され、リンパ球の分化を多段階的に制御していることが明らかになってきた¹⁸⁾。リンパ球の成熟過程で発現の増減が報告されているおもなmiRNAについて図2に示した。

Chen ら¹²⁾は、*miR-142*が赤血球系およびT細胞系細胞では低い発現レベルであるのに対し、B細胞系や骨髄系細胞では高発現していることを明らかにした。しかし*miR-142*を高発現させてもB細胞系細胞には影響がなく、T細胞系細胞を30~40%増加させることを示した。さらに、*miR-181a*を過剰発現させると、T細胞系細胞を減少し、とくにCD8+T細胞が減少することを示した。また、*miR-223*の過剰発現によってもT細胞系細胞の分化を促進することを明らかにした。Li ら¹⁹⁾は*miR-181a*がT細胞 receptors の感受性やシグナル強度を修飾すること、未成熟なT細胞に高発現していることを示した。さらに、*miR-181a*の発現を抑制するとCD4+CD8+T細胞からの分化が障害されることを明らかにした。したがって、*miR-181a*はCD4+CD8+T細胞からCD4+CD8-T細胞あるいはCD4-CD8+T細胞への分化を調節しているものと推測される。また、*miR-155*欠損マウスにおいてCD4+T細胞がTh2へと分化する傾向を強く、Th2サイトカインであるIL-4、IL-5などの産生が亢進しており、このTh2サイトカインの上昇には転写因子であるc-Mafが関係していることを明らかにされた¹¹⁾²⁰⁾。すなわち、*miR-155*は転写因子c-Mafを介して、Th2細胞の機能を制御していると考えられる。一方、Cobb ら²¹⁾は、Tregに発現しているmiRNAを調べ、naïve CD4 T細胞とは異なるものの活性化されたT細胞とよく類似していることを示し、さらに、Tregの分化にはDicerの存在が重要であることを見出した。また、Zhou ら²²⁾はTregに発現するmiRNAを選択的に不活化したマウスでは、Tregの機能が損なわれることを報告しており、miRNAがTregの機能に中心的な役割を担うことが明らかになった。最近、Kohlhaas ら²³⁾は*miR-155*欠損マウスにおいてTregの細胞数が減少しているが、*miR-155*欠損Tregの機能は保たれていることを明らかにした。これは、Tregの数的な調節と

機能的な調節は別のmiRNAでおこなわれていることを示唆するものであり興味深い。

一方、B細胞系の機能に関係するmiRNAとして、Chen ら¹²⁾は*miR-181a*過剰発現により、B細胞系細胞がおよそ2倍の増加したことを示した。その後、Zhou ら²⁴⁾は骨髄前駆・幹細胞に*miR-150*の過剰発現させることにより、成熟B細胞が減少することを明らかにした。加えて、*miR-150*欠損マウスでは、B細胞系の細胞が高発現していることも明らかにされた²⁵⁾。すなわち、*miR-150*はpro-B細胞からpre-B細胞への初期段階の分化を制御するはたらきをもつと考えられる。

以上から、miRNAが獲得免疫系の制御に深く関与していることは間違いなく、これらのmiRNAの障害は、炎症性疾患の成因に関係している可能性が示唆される²⁶⁾²⁷⁾。しかし、miRNAによる獲得免疫制御のメカニズムは複雑であり、現時点でその全貌が明らかになったとは言い難い。

3 | 今後の展望

IBDにおけるmiRNAの発現プロファイルの変化に関する報告は非常に少ない。Wu らの報告により、*miR-192*や*miR-21*などのいくつかのmiRNAがIBD患者で変化していることが示されたが⁴⁾、IBDの病態におけるmiRNAの異常については、いまだに不明な点が多い。今後の検討課題として、①炎症部と非炎症部の比較、②病型による比較、③同一症例における活動期と寛解期での変化や治療による影響、④人種間での相違などに注目して、miRNA発現プロファイルを調べていく必要がある。これら、活動性や表現型の相違に発現が左右されるmiRNAは腸管炎症や治療反応性に関係するmiRNAである可能性が高い。逆に、普遍的に異常をきたしているmiRNAを探索することで、IBDの病因に迫ることができるかもしれない。

一方、種々のIBDモデルにおけるmiRNAの発

現プロファイルを検討することで、IBDに関連するmiRNAを推測することができる。われわれはIL-10欠損マウスにおけるmiRNA発現プロファイルを検討し、*miR-146*や*miR-155*などの代表的な免疫関連miRNAを含む、発現異常を突き止めている。最終的には、IBDとの関連が想定されるmiRNAの過剰発現あるいは欠損マウスを用いた検討が必要となるであろう。

IBDには高頻度に腫瘍(colitic cancer, dysplasia)が合併することが知られているが、これらの炎症関連腫瘍の発生に関係するmiRNAについて、免疫制御に関係する*miR-155*などのmiRNAの持続的な上昇が、炎症関連腫瘍の発生に関与すると推測されているが²⁸⁾、その全容は明らかではない。今後、colitic cancerやdysplasiaの発生に関与するmiRNAが明らかにすることで、これらを標的とした新しい炎症関連癌治療の開発が可能となるかもしれない。

おわりに

IBDの病態に関連するmiRNAおよび免疫関連miRNAの研究について概説した。現時点では、IBDにおけるmiRNAの役割については不明な点が多く、疾患活動性や病型、人種間における相違、治療による変化などを詳細に検討していく必要がある。今までの研究成果から、免疫機構の制御に多くのmiRNAが関与していることは疑いのない事実であり、IBDに関しても複数のmiRNAが関係しているのはほぼ間違いない。そして、この分野の研究が発展することで、IBD関連miRNAを標的とした新しい遺伝子治療の開発が可能となるであろう。

文献

- 1) Lu J, Getz G, Miska EA *et al*: MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* **435**: 834-838, 2005
- 2) Negrini M, Ferracin M, Sabbioni S *et al*: Micro-

- RNAs in human cancer: from research to therapy. *J Cell Sci* **120** (Pt 11): 1833-1840, 2007
- 3) Sonkoly E, Wei T, Janson PC *et al*: MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of Psoriasis? *PLoS One* **2**: e610, 2007
- 4) Wu F, Zikusoka M, Trindade A *et al*: MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 α . *Gastroenterology* **135**: 1624-1635, 2008
- 5) Wu H, Neilson JR, Kumar P *et al*: miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells. *PLoS ONE* **2**: e1020, 2007
- 6) Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ *et al*: NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**: 12481-12486, 2006
- 7) Perry MM, Moschos SA, Williams AE *et al*: Rapid changes in microRNA-146a expression negatively regulate the IL-1 β -induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. *J Immunol* **180**: 5689-5698, 2008
- 8) O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP *et al*: MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 1604-1609, 2007
- 9) O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS *et al*: Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 7113-7118, 2009
- 10) Tili E, Michaille JJ, Cimino A *et al*: Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF- α stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol* **179**: 5082-5089, 2007
- 11) Rodriguez A, Vigorito E, Clare S *et al*: Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* **316**: 608-611, 2007
- 12) Chen X: A microRNA as a translational repressor of APETALA2 in Arabidopsis flower development. *Science* **303**: 2022-2025, 2004
- 13) Fazi F, Rosa A, Fatica A *et al*: A microcircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBP α regulates human granulopoiesis. *Cell* **123**: 819-831, 2005

- 14) Johnnidis JB, Harris MH, Wheeler RT *et al* : Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. *Nature* **451** : 1125-1129, 2008
- 15) Moschos SA, Williams AE, Perry MM *et al* : Expression profiling in vivo demonstrates rapid changes in lung microRNA levels following lipopolysaccharide-induced inflammation but not in the anti-inflammatory action of glucocorticoids. *BMC Genomics* **8** : 240, 2007
- 16) Makita S, Kanai T, Oshima S *et al* : CD4+ CD25bright T cells in human intestinal lamina propria as regulatory cells. *J Immunol* **173** : 3119-3130, 2004
- 17) Maul J, Loddenkemper C, Mundt P *et al* : Peripheral and intestinal regulatory CD4+CD25^{high} T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* **128** : 1868-1878, 2005
- 18) Neilson JR, Zheng GX, Burge CB *et al* : Dynamic regulation of miRNA expression in ordered stages of cellular development. *Genes Dev* **21** : 578-589, 2007
- 19) Li QJ, Chau J, Ebert PJ *et al* : miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell* **129** : 147-161, 2007
- 20) Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C *et al* : microRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells. *Immunity* **27** : 847-859, 2007
- 21) Cobb BS, Hertweck A, Smith J *et al* : A role for Dicer in immune regulation. *J Exp Med* **203** : 2519-2527, 2006
- 22) Zhou X, Jeker LT, Fife BT *et al* : Selective miRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity. *J Exp Med* **205** : 1983-1991, 2008
- 23) Kohlhaas S, Garden OA, Scudamore C *et al* : Cutting edge : the Foxp3 target miR-155 contributes to the development of regulatory T cells. *J Immunol* **182** : 2578-2582, 2009
- 24) Zhou B, Wang S, Mayr C *et al* : miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely. *Proc Natl Acad Sci USA* **104** : 7080-7085, 2007
- 25) Xiao C, Calado DP, Galler G *et al* : MiR-150 controls B cell differentiation by targeting the transcription factor c-Myb. *Cell* **131** : 146-159, 2007
- 26) Chong MM, Rasmussen JP, Rundensky AY *et al* : The RNaseIII enzyme Drosha is critical in T cells for preventing lethal inflammatory disease. *J Exp Med* **205** : 2005-2017, 2008
- 27) Liston A, Lu LF, O'Carroll D *et al* : Dicer-dependent microRNA pathway safeguards regulatory T cell function. *J Exp Med* **205** : 1993-2004, 2008
- 28) Tili E, Croce CM, Michaille JJ : miR-155 : on the crosstalk between inflammation and cancer. *Int Rev Immunol* **28** : 264-284, 2009