

<L-7> ERK1/2 経路の過剰活性化による LPS 誘導 IL-12p40 産生の抑制調節機構

○齋藤慎二、松浦基博、平井義一（自治医大・感染免疫・細菌）

【目的】細菌内毒素LPSは、生体に対し様々な応答を惹起する。感染防御や抗腫瘍といった生体防御に有利な効果を持つ反面、過剰な応答を引き起こせばエンドトキシンショックなど生体に傷害的にも働く。IL-12は、LPSにより誘導される重要なメディエーターの1つであり、自然免疫と獲得免疫を結びつける重要な因子の1つである。しかし、過剰応答によりこれらの因子が異常に産生されれば免疫系の攪乱を招き重篤な病態に発展する。故に、これら因子の負の制御系は免疫系の恒常性維持を図る上で重要なステップとなる。LPS刺激に対しマウスマクロファージ細胞株J774.1細胞は有意なIL-12p40産生を示すのに対し、RAW264.7細胞は殆ど産生を示さない。そこで、IL-12p40産生の抑制的調節機構のモデルとして、RAW264.7細胞を用いてLPS刺激によるIL-12p40産生を抑制する機構について解析した。

【方法】J774.1、RAW264.7細胞をLPS刺激した後、培養上清中のサイトカイン産生量はELISAで、mRNA発現はRT-PCRにて検出した。また、刺激後の細胞内リン酸化タンパク質等は特異抗体を用いたimmuno blott法により、核内転写因子の挙動はEMSAにより評価した。

【結果と考察】LPS刺激後、RAW264.7細胞でJ774.1細胞に比して、著しく高いERK1/2のリン酸化が認められた。MEK1/2に対する阻害剤、U0126添加によりERK1/2を阻害すると、LPS刺激によるRAW264.7細胞のIL-12p40 mRNAの発現が著しく上昇し、産生抑制が解除された。また、この時、IL-12p40プロモーター領域上のGA-12 repressor elementに対するGAP-12 (GA-12 binding protein) の結合活性が著しく低下した。RAW264.7細胞のLPSによるIL-12p40産生誘導に対する抑制作用は、過剰に活性化されたMEK/ERK系を介したGA-12 repressor elementの活性化に起因することが示された。

一方、GA-12 elementの活性化を誘導するIL-4、PGE2添加によりJ774.1細胞のLPS誘導IL12p40産生は阻害されたが、ERK1/2の過剰活性化は観察されなかった。RAW264.7細胞でのGA-12 elementの活性化がERK1/2の過剰活性化の直接作用である可能性が高い。