

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成27年4月15日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立病院機構 東京病院  
職 名 臨床研究部 生化学研究室 室長  
研究代表者 鈴木 真穂

下記のとおり平成 26 年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号 14018)

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	「代謝シグナル機能研究プロジェクト」 Th2 型免疫応答における Rab27 エフェクター分子の役割の解明			
2. 共同研究目的	FACS ソーティングにより単離した各種免疫細胞における Rab27 関連分子の発現パターンを確認し、さらに、野生型マウスと各分子の遺伝子欠損マウスとで、各種免疫細胞機能や、Th2 型応答依存的な疾患モデルの表現型を比較検討することで、Th2 応答における Rab27 関連分子の役割を明らかにする。			
3. 共同研究期間	平成 26年 4月 1日 ~ 平成 27年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 鈴木 真穂	臨床研究部 生化学研究室	室長	主任研究者	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	遺伝生化学	氏 名	泉 哲郎

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

群馬大学生体調節研究所

## 6. 共同研究計画

顆粒に蓄えられる生理活性物質(例:インスリンやカテコラミン)の分泌を制御している調節性分泌機構において、Rab27 及びそのエフェクター分子が中心的な役割を果たしていることは良く知られている。一方で、アレルギーなどの Th2 型免疫応答における Rab27 関連分子の機能は、まだほとんど解明されておらず、本申請研究では、下記の実験を行うことにより、それを明らかにしたいと考えた。

### 1) 各種細胞を用いた検討:

Th2 型応答に関与する各種免疫細胞を、マウスの脾臓から、又は、適切なサイトカインを用いて骨髄細胞から分化誘導後、FACS ソーティングにより分離・精製し、各細胞における Rab27 及びそのエフェクター分子の発現を確認する。更に、発現を認めた分子につき、その細胞内局在を同定する。そして、各免疫細胞に関して、野生型由来の細胞と各分子遺伝子欠損マウス由来の細胞とで、細胞機能の比較検討を行う。

### 2) マウスを用いた検討:

Th2 型免疫疾患(喘息など)モデルにおける各分子の役割を明らかにする為に、野生型と各分子遺伝子欠損マウスとでの疾患モデルの表現型の比較検討を行う。

## 7. 共同研究の成果

本申請研究において、下記のように、Rab27 関連分子の Th2 応答への関与を示唆する所見を得た。

### 1) 各種細胞を用いた検討:

平成 26 年度は、Th2 型免疫応答において重要な役割を果たし、かつ、分泌顆粒を有することが知られている好塩基球と肥満細胞にまず焦点を当て、解析を行った。野生型マウスの骨髄細胞を、IL-3 存在下で 8 日間培養することで好塩基球や肥満細胞へ分化させた後、FcεRI+ DX5+ c-kit- の好塩基球及び FcεRI+ DX5- c-kit+ の肥満細胞を、FACS ソーティングにより非常に高い純度で単離した。こうして単離した好塩基球及び肥満細胞における Rab27 関連分子の発現を検討した結果、Rab27a, b, 両アイソタイプとも強く発現し、更に、いくつかのエフェクター分子が発現していることを確認した。そして、一部の Rab27 関連分子遺伝子欠損マウス由来の好塩基球や肥満細胞では、野生型由来の細胞と比べて、生理活性物質の分泌に変化を認め、Rab27 関連分子が、これらの細胞からの生理活性物質の分泌に関与していることが示唆された。

アレルギー反応のような抗原特異的な Th2 型免疫応答の誘導には、Th 細胞と抗原提示細胞が重要な役割を果たす事は周知の事実である。そこで、Th 細胞各分画(メモリーTh 細胞、ナイーブ Th 細胞、Treg 細胞)及び CD11c+ 樹状細胞を、マウス脾臓から FACS ソーティングにより単離・精製し、各細胞における Rab27 関連分子の発現プロファイルを検討した。GM-CSF を用いて骨髄細胞から分化誘導させた CD11c+ 樹状細胞に関しても、単離・精製後、同様の検討を行った。そして、いずれの細胞においても、Rab27a の発現を認める一方で Rab27b の発現は非常に低く、また、そのエフェクター分子に関しても、好塩基球や肥満細胞とは異なる発現プロファイルを示すことを確認した。更に、一部のエフェクター分子の欠損マウス由来メモリーTh 細胞では、IL-4 の産生が著増していることを確認した。

なお、平成 26 年度には、各分子の細胞内局在やその動態に関しては、十分には解析を行えなかった。これらに関する検討は、引き続き、平成 27 年度に行っていく予定である。

### 2) マウスを用いた検討:

上記の実験で、Th2 型免疫応答に強く関与する免疫細胞において発現を認めた Rab27 関連分子に関して、その遺伝子欠損マウスと野生型マウスとで、Th2 型疾患の代表例である喘息モデルの表現型を比較検討した。そして、一部の遺伝子欠損マウスで、野生型と異なる表現型を示すことを確認した。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

本研究成果は、現在、投稿準備中である。