

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29年 4月28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28年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 14018 )

1. 共同研究課題名	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	Th2 型応答、ならびに、Th2 型応答で重要な役割を果たす好塩基球や肥満細胞における Rab27 エフェクター分子の役割を解明する。			
3. 共同研究期間	平成28年 4月 1日 ~ 平成29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。

## 6. 共同研究計画

インスリンやカテコラミンなど顆粒に蓄えられている物質の迅速な分泌を担う調節性分泌機構において中心的な役割を果たす Rab27 及びそのエフェクター分子の、Th2 型免疫応答における役割は、まだほとんど解明されていない。本申請研究では、個体レベル、細胞レベル、両方の実験系を用いながら、Rab27 及びそのエフェクター分子の Th2 型応答における役割を解明している。これまでの検討で、11 種類あるエフェクター分子のうち 2 種類のエフェクター分子に関して、その遺伝子欠損マウスで喘息モデルの増悪を認め、更に、骨髄キメラマウスを用いた検討により、血球系細胞における各分子の欠損が喘息様気道炎症の増悪を誘導することを確認した。また、これまでの検討で、上記の2つのエフェクター分子のうち、一つは主に CD4 陽性ヘルパーT(helper T, Th)細胞に発現し、一方で、もう一つの分子は、主に好塩基球・肥満細胞に発現していることを確認済みである。そこで、本年度は、この2つのエフェクター分子に焦点をあて、Th2 型免疫応答におけるその生理作用を明らかにする為に、下記の研究を行う予定を立てた。

1) マウスを用いた検討:細胞移入や細胞除去の系を用いて、in vivo での喘息モデルの増悪における上記の細胞の役割を明らかにする。

2) 各種細胞を用いた検討:野生型マウス由来、及び、各分子遺伝子欠損マウス由来の各種細胞を単離し、その細胞機能を比較検討する。

## 7. 共同研究の成果

まず、血球系細胞の中では主に CD4<sup>+</sup> T 細胞に発現を認めた Rab27 エフェクター分子に関して、この分子の遺伝子欠損マウスで認めた喘息様気道炎症の増悪の表現型発現における CD4<sup>+</sup> Th 細胞の重要性を明らかにする為に、CD4<sup>+</sup> Th 細胞移入の系を用いた検討を行った。即ち、野生型マウスに、OVA/alum で感作した野生型又はこの分子の遺伝子欠損マウス由来 CD4<sup>+</sup> Th 細胞を経静脈的に移入し、その後、レシピエントのマウスに OVA を経気道的に投与することで喘息様気道炎症を誘導する系で、各 CD4<sup>+</sup> Th 細胞移入群間での喘息の表現型を評価した結果、遺伝子欠損マウス由来 CD4<sup>+</sup> Th 細胞を移入されたマウスで喘息所見の増悪をみとめた。この結果は、CD4<sup>+</sup> Th 細胞における当該 Rab27 エフェクター分子の欠損が、喘息所見の増悪に重要な役割を果たしていることを示唆する。更に、骨髄キメラマウスの検討で、レシピエントである野生型マウスにこの分子の遺伝子欠損マウス由来の骨髄細胞を移入した場合、野生型マウス由来骨髄細胞を移入した場合と比べ、OVA/alum での感作により誘導される OVA 特異的な Th2 応答に関しては差を認めないにもかかわらず、その後、OVA 抗原を経気道的に投与した際に、喘息様気道炎症が著明に増悪することを確認した。すなわち、血球系細胞におけるこの分子の欠損により、肺でのアレルギー性応答が増悪することが確認された。

もう一方の分子に関しては、血球系細胞におけるこの分子の欠損により、OVA/alum での感作により誘導される OVA 特異的な Th2 応答、及び、その後の肺局所への OVA 投与により誘導される好酸球性気道炎症、いずれもが増悪することを確認した。次に、抗原感作期にまず焦点を当て、そこでこの分子が果たす役割を明らかにするために、更なる検討を行った。まず、抗原感作期において、Th2 細胞の誘導に重要な役割を果たすことが知られている好塩基球、Th 細胞、及び樹状細胞におけるこの分子の発現を検討した。その結果、好塩基球にもっとも高発現し、更に、好塩基球よりは低いレベルではあるが、Th 細胞、樹状細胞にも発現をみとめた。そこで、各種細胞を野生型マウス、及び、この分子の遺伝子欠損マウスから単離し、その機能を比較検討した。その結果、好塩基球や Th 細胞に関しては、検討した範囲では、大きな差を認めなかった。一方で、樹状細胞機能に関しては、当該分子の遺伝子欠損マウス由来の樹状細胞では、野生型マウス由来の樹状細胞と比較して、Th1 応答誘導能が低下しており、この樹状細胞による Th1 応答誘導の低下に伴い、相対的に抗原特異的 Th2 応答が亢進している可能性が考えられた。

以上、Rab27 関連分子のうち二つの分子に関して、Th 細胞や樹状細胞で作用することで、Th2 応答の成立に重要な役割を果たしていることを示唆する所見を得た。一方で、各分子の各細胞における作用機構の詳細は、まだ充分には解明できておらず、今後の継続課題とした。

## 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を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

学会発表・論文発表等は特にないが、作用機序がもう少し解明できれば、速やかに論文投稿を行う予定でいる。