

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 東京大学
職 名 保健・健康推進本部 助教
研究代表者 齋藤 朗

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: 15014)

1. 共同研究課題名	肺上皮細胞における Rab27 関連分子の機能の解明			
2. 共同研究目的	肺上皮細胞からの生理活性物質の分泌における Rab27 関連分子の作用を明らかにすることで、肺での生理反応の制御機構に関する理解を深める			
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) 齋藤 朗	東京大学保健・健康推進本部	助教	主任研究者	
(分担研究者) 堀江 真史	東京大学保健・健康推進本部	助教	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

肺上皮細胞は、長年、病原体などの外的異物の体内侵入を防ぐ単なる物理的バリアーとして作用すると考えられてきたが、近年、分泌細胞としての機能が明らかにされ、肺での生理的反応におけるその重要性が注目され始めている。Rab27 及びそのエフェクター分子は、インスリンやカテコラミンなど、顆粒に preformed の形で蓄えられている物質の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していることが良く知られている。そして、Rab27 や、そのエフェクター分子の一つである Munc13-4 は、肺上皮細胞に発現していることが既に報告されている。一方で、肺上皮細胞における他の Rab27 エフェクター分子の発現プロファイルや、発現を認める各 Rab27 関連分子の肺上皮細胞における役割は、まだほとんど解明されていない。そこで、本申請研究は、肺上皮細胞における Rab27 関連分子の役割を明らかにすることを目的に、始められた。そして、昨年度までに、肺上皮細胞における Rab27 関連分子の発現プロファイルを確認した。近年、肺での Th2 応答の増強因子として、肺上皮細胞から分泌される生理活性物質の中でも特に、上皮性サイトカイン IL-33 の重要性が強調されている。そこで、本年度は、肺上皮細胞から分泌される生理活性物質の中ではまず IL-33 に焦点を当て、肺上皮細胞における発現を確認済みの Rab27 関連分子に関して、それらが、IL-33 分泌や Th2 型呼吸器疾患 (例: 喘息) の病態形成において果たす役割を明らかにする為に、下記の実験を計画した。

- 1) IL-33 分泌に関する検討: 昨年度までの検討で、マウス肺から単離した肺上皮細胞において発現を確認済みの Rab27 関連分子に関して、個体レベル (野生型マウス vs 各遺伝子欠損マウス)、及び、細胞レベル (各マウス由来肺上皮細胞を使用) で、各分子の欠損が IL-33 の分泌に及ぼす影響を検討する。その際、IL-33 分泌促進因子として良く知られているアルテルナリア (真菌の一種) 抽出液を、適宜使用する。免疫染色により、肺上皮細胞における IL-33 と Rab27 関連分子の局在パターンを解析する。
- 2) 疾患モデルでの検討: 本年度は、IL-33 がその病態形成上重要な役割を果たすと考えられている Th2 型呼吸器疾患である喘息にまず焦点をあて、上皮細胞に存在する Rab27 関連分子の役割を検討する。すなわち、肺上皮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の喘息モデルの表現型の違いを検討する。更に、骨髓キメラマウスを作製し、その喘息モデルの表現型が、肺上皮細胞を含む非血球系細胞における当該 Rab27 関連分子の欠損により誘導されるかを確認する。

7. 共同研究の成果

本共同研究において、H28 年度には下記の結果を得た。

- 1) IL-33 分泌に関する検討: 上述の、個体レベル、細胞レベル、両レベルでの検討の結果、肺上皮細胞に発現する Rab27 関連分子のうち、二つの Rab27 エフェクター分子に関して、それらの欠損が肺上皮細胞からの IL-33 の分泌を亢進させるという結果を得た。一方で、本年度には十分には検討出来なかった、各分子と IL-33 の細胞内局在の検討や、各分子による IL-33 分泌制御の機序の詳細に関しては、H29 年度に検討を行う予定である。
- 2) 疾患モデルでの検討: 昨年度までに肺上皮細胞における発現を確認済みの Rab27 関連分子に関して、昨年度から行っていた各分子の遺伝子欠損マウスや骨髓キメラマウスの喘息モデルの表現型の検討を、結果の再現性の確認の意味も含めて、本年度も継続して行った。その結果、上記の項で、その欠損により肺上皮細胞からの IL-33 の分泌亢進を認めた分子のうちの一つに関して、その分子の欠損マウスで、野生型と比較して喘息モデルの表現型が増悪していることを確認した。更に、骨髓キメラマウスを用いた検討から、この喘息の増悪が、非血球系細胞におけるこの分子の欠損により誘導されていることを確認した。以上から、この分子の欠損により肺上皮細胞からの IL-33 分泌が亢進し、それに伴い、喘息の表現型が増悪している可能性が考えられた。そこで、H29 年度には、IL-33 とこの分子の両方が欠損したマウスを作製し、この分子の欠損マウスでの喘息増悪が、IL-33 依存性かどうかを検討する予定である。

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。)

特になし。