

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 30 年 4 月 23 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29年度の共同研究成果を報告します。  
記

(課題番号: 17003)

1. 共同研究課題名	IL-33-ST2 経路の制御機構の解明		
2. 共同研究目的	IL-33 の生理作用が明らかになる一方で、そのシグナル伝達制御機構は未だ不明な点が多い。本研究では、各種遺伝子欠損マウスや細胞生物学的手法を用いて、それを明らかにする。		
3. 共同研究期間	平成 29 年 4 月 1 日 ~ 平成 30 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

近年にアレルギー反応における重要性が明らかになったサイトカインとして、上皮性サイトカインIL-33が知られている。IL-33は、主に肺や腸管の上皮細胞に恒常的に発現しており、外的刺激に応じて速やかに分泌されるアラミンとして作用するサイトカインである。アレルギー反応の病態の本態は抗原特異的な好酸球性炎症であるが、最近、この抗原特異的な好酸球炎症の成立に必須な細胞として、IL-5産生性病原性Th2細胞が同定され、更に、この細胞の分化及び活性化がIL-33により誘導されることが明らかにされた。つまり、IL-33はアレルギー反応の病態形成上、上位中枢で作用しており、IL-33のシグナル経路の制御機構を解明することは、アレルギー反応のより根本的な制御機構の理解につながると考えられる。

IL-33は、IL-1 $\beta$ と同様、シグナルペプチドを欠いており、その分泌機構の実態は十分には解明されていないが、non-canonicalな経路で、エキソゾームやライソゾーム様オルガネラを介して分泌されると推測されている。これらエキソゾームやライソゾーム様オルガネラの分泌を制御している分子として、Rab27関連分子が知られており、IL-33の分泌にRab27関連分子が関与している可能性が考えられる。Rab27にはa, b, 2つのアイソタイプがあり、GTPと結合した活性型Rab27は、エフェクターと呼ばれる分子(11種類)と結合して、分泌小胞膜の輸送を精巧にコントロールしている。申請者の受け入れ研究者は、これまでに、肺上皮細胞からのIL-33分泌や、病原性Th2細胞のIL-33に対する反応性が、Rab27エフェクター分子により制御されていることを示唆する予備的所見を得ている。即ち、Rab27が、IL-33シグナル全体を制御している可能性が非常に高いと考えられ、それを明らかにする目的で、本研究では以下の検討を行った。

a) IL-33分泌機構の検討: IL-33は、マウスではII型肺胞上皮細胞に恒常的に強く発現しており、真菌であるアルテルナリアの抽出液により、その分泌が誘導される。そこで、野生型マウスから単離したII型肺胞上皮細胞におけるRab27エフェクター分子の発現を調べ、発現を認める分子の欠損マウスと野生型マウスとで、アルテルナリア刺激に応じたIL-33の分泌の違いを、in vivoの実験や、単離II型肺胞上皮細胞を用いたex vivoの実験で比較検討した。b) IL-33-ST2シグナル経路の検討: 前述のように、アレルギー反応の成立に必須のIL-5産生性病原性Th2細胞の分化や活性化はIL-33により制御されているが、この細胞上のIL-33受容体ST2の発現量やその先の細胞内シグナル伝達経路の調節機構は、ほとんど解明されていない。そこで、ST2受容体の発現やシグナル伝達へのRab27関連分子の関与を検討するため、マウス脾臓からFACSソーティングにより病原性Th2細胞を単離し、発現するRab27関連分子を同定した後、発現を認めた分子の欠損マウスや野生型マウスから病原性Th2細胞を単離し、ST2受容体の発現レベルやIL-33に対する反応性の差異を、定常状態下や各種刺激下で比較検討した。

### 7. 共同研究の成果

平成29年度には、肺上皮細胞および病原性Th2細胞の両方で発現を認めるRab27エフェクター分子に焦点を当て、各細胞におけるその生理作用を明らかにする為に、上述の各種検討を行った。その結果、野生型マウスと比較して、当該分子の遺伝子欠損マウスにおいて、経気道的にアルテルナリアを投与した際の肺胞腔中へのIL-33分泌が、有意に亢進していることを確認した。同様の結果を、単離II型肺胞上皮細胞を用いたex vivoの実験でも確認した。さらに、病原性Th2細胞における当該分子の欠損により、抗CD3抗体刺激時のST2受容体の発現が亢進し、抗CD3抗体刺激と同時にIL-33を投与した際のIL-5産生が亢進すること、すなわち、IL-33に対する病原性Th2細胞の反応性が亢進することも確認した。

以上の結果からは、当該分子は、肺上皮細胞からのIL-33分泌を制御し、更に、IL-33反応性細胞におけるST2受容体の発現をも制御する、IL-33-ST2経路のマスターレギュレーターとして作用している可能性が示唆される。その作用の分子機構の詳細を明らかにすべく、今後も研究を継続していく予定である。

### 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のある論文、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。)

#### ① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

該当なし

#### ② この共同研究に基づくとの記載のある論文

該当なし