

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31年 4月26日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 東京大学 保健・健康推進本部
職 名 助教
研究代表者 齋藤 朗

下記のとおり平成30年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 18017)

1. 共同研究課題名	肺上皮細胞におけるサイトカイン分泌機構の解明		
2. 共同研究目的	分泌制御分子である Rab27 関連分子に着目しながら、肺上皮細胞からの上皮性サイトカインの分泌機構を明らかにし、その結果、肺での生理反応の制御機構に関する理解を深めることを目的とする。		
3. 共同研究期間	平成30年 4月 1日 ~ 平成31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)			
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、微生物などの外的異物の体内侵入を防ぐ物理的バリアーとして長年考えられてきた。しかし近年、分泌細胞としての機能が明らかにされ、肺の生理的反応における肺上皮細胞由来の生理活性物質の重要性が注目されている。特に肺上皮細胞から分泌されるサイトカイン IL-33 は、気管支喘息などのアレルギー反応を増強させる主要な上流分子として注目されている。本申請研究では、IL-33 をはじめとする肺上皮細胞由来のサイトカインの分泌制御、とくに Rab27 関連分子を介したメカニズムを解明し、気管支喘息などの呼吸器疾患の病態理解につなげることを目的に、下記の検討を行った。

(1) IL-33 分泌に関する検討: これまでに、マウス肺から単離した肺上皮細胞において発現を認めた 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)、および細胞レベル(各マウス由来の肺上皮細胞)で、その欠損が IL-33 の分泌に及ぼす影響を検討し、その結果、2つの Rab27 エフェクター分子の欠損によって、肺上皮細胞からの IL-33 の分泌が亢進するという結果を得た。本年度は、各分子による IL-33 分泌制御の分子機構を明らかにすることを目的に、各種検討を行った。

(2) 各分子の欠損が喘息モデルの表現型に及ぼす効果の検討: IL-33 は気管支喘息の病態形成において重要な役割を果たすことが知られている。本年度は、上記の2つの Rab27 関連分子のうち1つの分子に焦点をあてて、マウス喘息モデルを用いた解析を行った。まず、当該分子の遺伝子欠損マウスと野生型マウスで、喘息モデルの表現型の違いを比較検討した。さらに骨髄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した。各遺伝子欠損マウスにおける表現型の違いが、IL-33 の分泌レベルの変化によるものかを明らかにするため、Rab27 関連分子と IL-33 の両方が欠損したマウス(既に作製済み)を用いた検討も行った。

7. 共同研究の成果

本年度は、その欠損により IL-33 の分泌亢進が確認された2分子のうちの1分子に主に焦点をあてて検討を行い、下記の結果を得た。

(1) IL-33 分泌に関する検討: 野生型マウスと比較して、当該分子欠損マウスでは、上皮刺激性物質であるアルテルナリア抽出液を *in vivo* で経気道的に投与した際に、肺胞洗浄液中の IL-33 および LDH 濃度の有意な上昇を認めた。更に、単離したⅡ型肺胞上皮細胞を、同様にアルテルナリア抽出液で *ex vivo* で刺激した際の IL-33 の分泌も、野生型マウス由来の細胞と比較して、当該分子欠損マウスから単離した細胞で有意に亢進し、更に、その際、膜非透過性の核染色剤である 7-AAD により染色される細胞数が増加していることも確認された。以上から、当該分子の欠損により、肺上皮細胞の脆弱性が誘導され、外的刺激物質による細胞(膜)傷害が亢進することで、IL-33 分泌が亢進することが示唆された。今後、当該分子による上皮細胞 integrity の制御機構の分子基盤を明らかにしていく予定である。

(2) 喘息モデルの表現型の検討: まず OVA 誘発性喘息モデルを用いた検討を行った。その結果、当該分子の欠損マウスでは、野生型マウスと比較して、喘息様アレルギー性気道炎症が有意に増悪するが、IL-33 と当該分子の2重欠損マウスでは、野生型マウスと同程度までアレルギー性気道炎症が減弱することを確認した。また、ハウスダスト抽出液の経気道的投与により誘導するマウス喘息モデルでも、まだ十分数のマウスを用いた検討は行えていないものの、同様の傾向を認めている。すなわち、当該分子の欠損により、IL-33 依存的にアレルギー性気道炎症が増悪することが示唆された。また、骨髄キメラマウスを用いた検討では、野生型マウス由来骨髄細胞を移入する際に、レシピエントマウスに当該分子欠損マウスを用いた場合、野生型のレシピエントマウスと比べて、喘息様気道炎症が増悪する傾向を認めた。一方で、興味深いことに、当該分子欠損マウス由来骨髄細胞の移入によっても、アレルギー性気道炎症が増悪することを確認した。血球系細胞における当該分子の生理作用やその発現細胞に関して、現在検討を継続中である。

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

特に無し。

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

特に無し。