

課題番号 17

SLPI によるアレルギー疾患の制御機構の解析

[1] 組織

代表者：中村 晃

(東北医科薬科大学)

対応者：高井 俊行

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 30 万円

[2] 研究経過

[研究目的]

SLPI によるアレルギー疾患の制御機構の解明

アレルギー疾患は、加齢に伴い発症あるいは症状が悪化することが知られている。主なエフェクター細胞は、マスト細胞、好塩基球、好酸球である。これらの細胞は抗原の刺激により、ヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質や様々なサイトカインを産生するが、この他にもキマーゼやカテプシン G さらにはグランザイムなどのセリンプロテアーゼを産生する。これらセリンプロテアーゼは、本来細菌感染に対する防御機構として働くが、過剰な分泌は炎症反応を助長し、組織破壊を引き起こす。一方、生体には炎症性プロテアーゼを特異的に抑制するインヒビターが存在している。研究代表者らは代表的なセリンプロテアーゼインヒビターである SLPI (secretory leukoprotease inhibitor) の遺伝子欠損マウスを作製し、SLPI が敗血症の抑制因子であることを世界に先駆けて明らかにしている。SLPI を含めセリンプロテアーゼインヒビターについては国内外の研究者らにより、抗炎症作用が多数報告されている。近年では、敗血症の治療薬としても商品化されているが、アレルギー疾患における生理機能については不明なままである。これまで研究代表者らは、抑制型受容体 PIR-B 欠損マウスにおいてアレルギー反応が亢進していることを明らかにしているが(業績 1)、このマウスでは、セリンプロテアーゼインヒビターの mRNA 発現が大きく変動していた。しかしながら、セリンプロテアーゼインヒビターは、マスト細胞で一部の発現が確認されているのみで、好塩基球や好酸球においては発現すら報告されていなかった。ごく最近になり、申請者らはタンパク質レベルでの SLPI の発現を検討したところ、好塩基球において好中球の約 22 倍と極めて高発現していることを見いだした。これらの結果から、SLPI がアレルギー反応の新規制御分子である可能性が考えられた。

そこで本研究では、これまでまったく知られていないアレルギーのエフェクター細胞における SLPI の機能を明らかにすることを目的とした。

[研究活動状況]

遺伝子導入研究分野から導入した遺伝子欠損マウスを用いて実験を行った。また、研究費はすべて物件費として使用した。主として研究に必要な抗体費用および加齢医学研究所の動物飼育費として使用した。尚、旅費は計上しなかった。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本共同研究では分与を受けた各種遺伝子欠損マウスを交配・維持すると共に、骨髄細胞より各種サイトカインにて誘導したマスト細胞、好塩基球、好酸球における SLPI の役割を検討した。

1) SLPI 欠損好塩基球および好酸球の解析

SLPI はマスト細胞で発現を殆ど認められなかったが、好塩基球と好酸球で発現を認めた。そこで、SLPI 欠損マウスの骨髄細胞より好塩基球を誘導した。SLPI 欠損好塩基球の形態学的な異常は認められなかった。次に IgE 刺激によるサイトカイン産生およびセリンプロテアーゼ活性を検討した。その結果、SLPI 欠損好塩基球では IL-4, 6, 13 産生が亢進していた。さらに、トリプターゼ活性が亢進していた。一方、IgE 下流の代表的なシグナル伝達分子のリン酸化には明らかな差はなく、他のシグナル伝達分子に影響を与えていることが示唆された。次に好酸球における SLPI の作用を検討した。好塩基球と同様に、SLPI 欠損好酸球は、形態学的な異常は認めなかった。好酸球は IgE 受容体を発現おらず、LPS 受容体である TLR4 を発現していることから、LPS 刺激後のサイトカイン産生を検討した。その結果、SLPI 欠損好酸球において、IL-6 およびセリンプロテアーゼである MMP-9 産生が亢進していた。LPS 下流のシグナル伝達を検討したところ、転写因子 Elk-1 のリン酸化が SLPI 欠損好酸球で亢進していた。また、SLPI が JNK-interacting protein (JIP) 3 と呼ばれる足場タンパク質に結合していることを見出した。これらの結果から、SLPI は好塩基球および好酸球の活性化を制御していることが明らかになった。

2) 好塩基球および好酸球性疾患モデルでの検討

初めに、IgE 受容体を欠損する FcR γ 鎖欠損マウスに、好塩基球を移入し遅延型 I 型アレルギー反応を誘導し、

好塩基球が主体となる疾患モデルでの SLPI の作用を検討した。その結果、SLPI 欠損好塩基球を移入したマウスでは、I型アレルギー反応が亢進していた(図1)。次に好酸球が主体となるモデルとしてハウスダスト(HDM)による気管支喘息モデルを誘導してした。その結果、SLPI 欠損マウスでは、好酸球浸潤が著明に亢進していた(図2)。また、SLPI 欠損好酸球を移入したマウスでキチンによる好酸球炎症モデルが増悪していた。以上の結果から、SLPI は好塩基球と好酸球によるアレルギー性炎症を個体レベルでも制御していることが判明した。

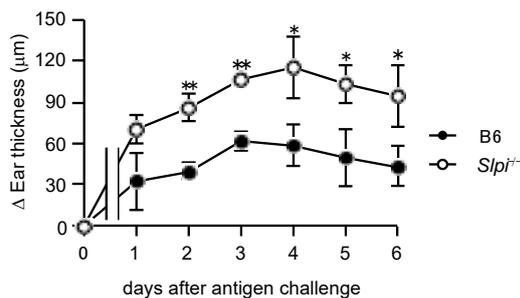


図1: SLPI は好塩基球によるI型アレルギー反応を制御する

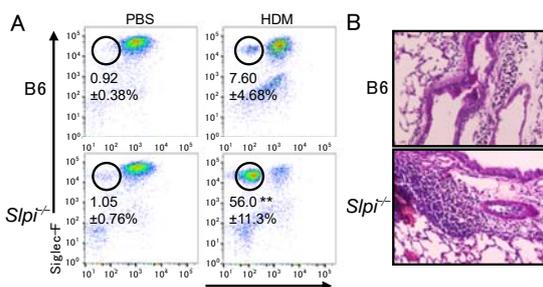


図2: SLPI 欠損マウスではHDMによる喘息モデルが増悪する

A: BALFの好酸球分画 B: 最終感作後の肺病理象

(3-2) 波及効果と発展性など

難治性の喘息患者では SLPI の産生が低下していることが報告されており、本研究結果とあわせてアレルギーの治療薬としての SLPI の可能性を示す結果と考えられる。また、今回、明らかになった SLPI と JIP3 の相互作用について研究を進めることにより、特に好酸球が主体となる慢性アレルギー疾患の新たな治療薬の開発につながることを期待される。本研究は *Frontiers in immunology* 誌に掲載された。

[4] 成果資料

(1) Takeda K, Nakamura A: Regulation of immune and neural function via leukocyte Ig-like receptors. *J. Biochem.* 162:73-80, 2017

(2) Matsuba S, Yabe-Wada T, Takeda K, Sato T, Suyama M, Takai T, Kikuchi T, Nukiwa T, Nakamura A:

Identification of Secretory Leukoprotease Inhibitor As an Endogenous Negative Regulator in Allergic Effector Cells. *Front. Immunol.* 8:1538. doi: 10.3389/fimmu.2017.01538, 2017

(3) Kaifu T, Nakamura A. Polymorphisms of immunoglobulin receptors and the effects on clinical outcome in cancer immunotherapy and other immune diseases: a general review. *Int. Immunol.* 29: 319-325, 2017

(4) Matsuba Shintaro, Yabe-Wada Toshiki, Takeda Kazuya, Onai Nobuyuki, Takai Toshiyuki, Nakamura Akira: SLPI negatively regulates LPS-induced eosinophil activation via inhibition of Elk-1 phosphorylation. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, Sendai International Center, Sendai, December 14, 2017