

課題番号 39

## 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 20 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った。昨年度、研究代表者らは SLPI が、好塩基球と好酸球に発現していることを見出した(業績2)。SLPI 欠損好塩基球では IgE 刺激によるサイトカイン産生が亢進し、また好塩基球による I 型アレルギー反応が SLPI 欠損マウスで増悪していることを明らかにした。また、SLPI 欠損好酸球では LPS 刺激によるサイトカイン産生や細胞浸潤活性が亢進していた。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。個体レベルでの検討では、SLPI 欠損マウスではハウスダストによる気管支喘息モデルが増悪

しており、さらに SLPI 欠損好酸球を移入したマウスでは、アレルゲンであるキチンによる好酸球性炎症が増悪していた。これらの結果から、SLPI が好塩基球および好酸球によるアレルギー性炎症を制御していることが明らかになった(業績2)。本研究では、昨年度から引き続いてリコンビナントタンパク質によるアレルギー反応の制御を試みるとともに、SLPI-JIP3 相互作用を検討することにより新たなアレルギー治療薬の開発を目指す。

## [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、骨髓細胞より各種サイトカインにて誘導し好酸球における SLPI の役割を検討した。また、末梢血での SLPI の発現を検討した。

## 1) リコンビナント SLPI タンパク質によるアレルギー反応の制御

マウス好酸球においてリコンビナント SLPI による LPS 刺激後のサイトカイン産生の制御を試みた。多量のリコンビナント SLPI を投与しても IL-6 産生は軽度には止まった。そこで、Erk1/2 および JNK1 阻害剤によるシグナル抑制について検討を行った。その結果、JNK1 阻害剤により Elk-1 のリン酸化が抑制されることを見出した(図1)。現在、SLPI 欠損マウスにおいて好酸球性副鼻腔炎を誘導し、阻害効果を検討中である。

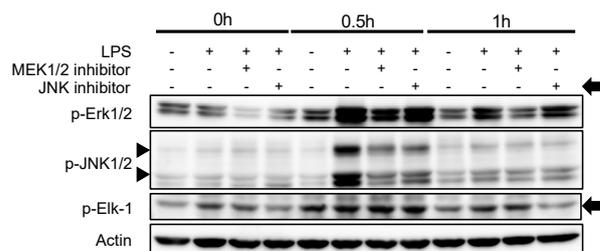


図1 : JNK inhibitorはElk-1のリン酸化を抑制する  
LPS刺激後のErk1/2、JNK1/2、Elk-1のリン酸化を示す

## 2) SLPI-JIP3 相互作用の検討

JIP3 peptide と SLPI による相互作用を検討する目的で、JIP3 のホモロジーモデリングと SLPI 複合体のドッキングシミュレーションを、導入した Discovery Studio (ダッソー・システムズ) を用いて行い、JIP3 との結合配列を検討した (図2)。SLPI の JIP3 の結合領域は 83-85, 88,89 残基に位置することが示唆された。ヒト好酸球において SLPI が高発現すること、また、好酸球性炎症性疾患の好酸球で SLPI の発現が低下していることを見出した (データ示さず)。ヒト好酸球を用いて作成した peptide の投与実験を行う予定である。

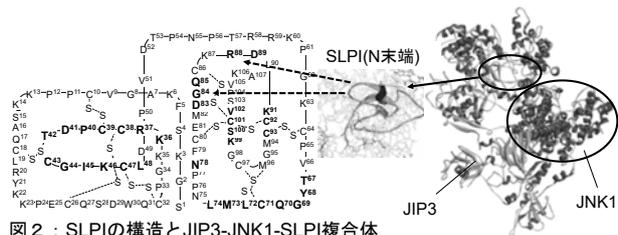


図2 : SLPIの構造とJIP3-JNK1-SLPI複合体  
左 : SLPIのアミノ酸構造と配列を示す。エラスターゼ阻害活性は36-48残基及び67-74残基にある。  
右 : JIP3/JNK1とSLPI(N末端) のドッキングシミュレーション。SLPIはD83-Q85, R88, D89に強く、K91-C93, K99-V102に弱く結合する

### (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いる。今後、in vivo 実験を行うことにより、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。

## [4] 成果資料

### (1) Kazuya Takeda, Tomonori Kaifu, Akira Nakamura:

The search for Theiler's murine encephalomyelitis virus receptor. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, Fukuoka Conventional Center, Fukuoka, December 11, 2018

(2) 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