

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：34519

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659226

研究課題名(和文) IL-33によるアルツハイマー病発症機序の解析

研究課題名(英文) Analysis of the pathogenesis of Alzheimer's disease by IL-33

研究代表者

善本 知広 (YOSHIMOTO, Tomohiro)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60241171

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：免疫調節因子であるIL-33の遺伝子領域にアルツハイマー病の罹患感受性と相関する遺伝子多型があること、アルツハイマー病患者の脳ではIL-33の発現が減少することが報告された。さらに、IL-33はAβの発現を減少させることが報告され、IL-33はアルツハイマー病の発症に対し抑制因子として作用することが示唆された。しかし、脳内IL-33の産生機序とIL-33の認知機能に対する生理的役割については全く不明である。本研究ではIL-33の認知機能に対する生理的役割についてIL-33欠損マウスを用いて検討した。その結果、IL-33とその細胞内シグナル伝達因子が学習・記憶形成に関与することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：A recent report has revealed a gene polymorphism that is associated with reduced risk of Alzheimer's disease within the IL-33 gene region in addition to decreased IL-33 expression in the brains of patients with Alzheimer's disease. Furthermore, IL-33 has been reported to reduce the expression of beta-amyloid (Aβ40). Thus, it has been suggested that IL-33 may act as inhibitors against the development of Alzheimer's disease. However, the precise mechanism of reduced IL-33 expression and the physiological role for cognitive function of IL-33 in the brain remains unclear. In this study, we investigated the physiological role of IL-33 in cognitive function using IL-33 deficient mice. As a result, we revealed that IL-33 and its intracellular signaling factor is involved in learning and memory formation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：IL-33 アルツハイマー病 学習・記憶

1. 研究開始当初の背景

IL-33 は IL-18 と同様 IL-1 ファミリーに属する新規サイトカインとして 2006 年クローニングされ、その受容体は ST2 である。IL-18 はマクロファージの細胞質内で前駆体の形で作られ、caspase-1 によって活性型となって細胞外に産生される。一方、IL-33 は上皮細胞や血管内皮細胞の核内に局在し、組織傷害によって受動的に生理活性を有する前駆体で放出される。しかし、その産生メカニズムは全く解明されていない。申請者はこれまで、IL-33 はアレルギー性炎症増悪因子であることを明らかにしてきた。しかし、最近 1~2 年の間に IL-33 はアレルギー以外の様々な疾患の増悪または抑制因子として関与することが報告されてきた。

アルツハイマー病は血管性認知症と共に、最も多い認知症の一種で、患者数は全世界で約 1,800 万人と報告されている。アルツハイマー病の原因の一つとして、脳内アミロイドβ(Aβ)の沈着による脳神経細胞の破壊が考えられている。しかし、如何なる機序で Aβ の過剰沈着が起こるのかについては不明な点が多い。最近、IL-33 は中枢神経系のアストロサイトあるいは脳微小血管内皮細胞に存在することが報告された。さらに、1) IL-33 遺伝子領域にアルツハイマー病の罹患感受性と関連のある遺伝子多型があること、2) アルツハイマー病患者の脳では IL-33 の発現が減少すること、3) IL-33 は Aβ の発現を減少させることが報告され、IL-33 はアルツハイマー病の発症に対し抑制因子として作用することが示唆された。しかし、脳内 IL-33 の産生機序(如何なる機序でアルツハイマー病患者の脳では IL-33 の発現が減少するのか)IL-33 の認知機能に対する生理的役割(脳内 IL-33 の低下が学習記憶障害を惹起するのか)については全く研究されていない。

2. 研究の目的

IL-33 によるアルツハイマー病の発症機序を明らかにする目的で、(A)脳内 IL-33 産生調節機序を明らかにし、(B)IL-33 の認知機能に対する生理作用を解明する。

3. 研究の方法

(1) マウス脳の IL-33 免疫染色

8、16、24、32、40、48、56、64 週令の正常 BALB/c マウスの脳切片組織を我々の研究

室で作成した IL-33 特異的抗体にて免疫染色を行なった。

(2) マウス脳ミクログリア細胞からの IL-33 産生解析

正常 BALB/c マウス脳からミクログリアを分離した後、これを LPS にて 24 時間刺激培養後、上清中の IL-33 産生を ELISA にて測定した。

(3) 集合興奮性シナプス後電位 (field excitatory postsynaptic potential; fEPSP) の測定

マウス海馬を脳から分離し、400 μm の海馬片を用意した。マウス海馬片を人工脳脊髄液下に Schaffer 側枝を 0.0033 Hz 刺激し、CA1 領域から得られる fEPSP を測定した。

(4) 水迷路試験

直径 90cm、深さ 30cm の円形プールに 22 水を入れたモーリス水迷路試験を行った。

4. 研究成果

(1) 脳内 IL-33 の産生細胞と産生機序の研究

正常マウスの加齢に伴う脳内 IL-33 の発現及びその局在を免疫染色法で検討した。その結果、8 週令の若年マウスでは IL-33 発現が認められないが、16 週令から IL-33 発現を認め、以後加齢とともにその発現が増強した。一方、IL-33 欠損マウス脳では IL-33 発現細胞は認められないことから、当該免疫染色は IL-33 特異的であることが確認された。次に、正常マウス脳からミクログリアを分離した後、これを LPS にて刺激培養後、上清中の IL-33 産生を ELISA にて測定した。既に報告されている論文結果と異なり、ミクログリアからの IL-33 産生は認められなかった。

(2) IL-33 の脳電気生理学的影響の研究

IL-33 の脳神経系に対する役割を検討する目的で、学習・記憶の細胞モデルである海馬集合興奮性シナプス後電位(fEPSP)を正常マウスと IL-33 欠損マウスを用いて検討した。その結果、IL-33 欠損マウスでは海馬シナプス増強現象が正常マウスに比較して著明に低下していることを確認した。次に、IL-33 の作用が IL-33 受容体シグナル伝達(MyD88)を介したものを検討する目的で MyD88 欠損マウスを用いて海馬シナプス増強現象を検討した。その結果、MyD88 欠損マウスでも海馬シナプス増強現象が正常マウスに比較して著明に低下していることを確認した。

(3) IL-33 欠損マウスの空間認知機能の研究
IL-33 欠損マウスと MyD88 欠損マウスで海馬シナプス増強現象が低下していることから、「IL-33 が学習・記憶形成に關与する」可能性が非常に高い。そこで、両欠損マウスを用いたモリス水迷路実験を行った。その結果、正常マウスに比較して IL-33 欠損マウスと MyD88 欠損マウスはプラットホームへの逃避潜時が著明に延長した。以上の結果から、「IL-33—MyD88 を介した経路が学習・記憶形成に關与する」ことが示唆された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者には下線)
〔 雑誌論文 〕 (計 19 件)

欧文原著

1. Futatsugi-Yumikura S, Matsushita K, Fukuoka A, Takahashi S, Yamamoto N, Yonehara S, Nakanishi K, Yoshimoto T. Pathogenic Th2-type follicular helper T cells contribute to the development of lupus in Fas-deficient mice. *Int Immunol*, 26: 221-31, 2014. (査読有)
DOI: 10.1093/intimm/dxt070.
2. Ohashi K, Yoshimoto T, Kosaka H, Hirano T, Iimuro Y, Nakanishi K, Fujimoto J. Interferon γ and plasminogen activator inhibitor 1 regulate adhesion formation after partial hepatectomy. *Br J Surg*. 101:398-407, 2014. (査読有)
DOI: 10.1002/bjs.9405.
3. Imai Y, Yasuda K, Sakaguchi Y, Futatsugi-Yumikura S, Yoshimoto T, Nakanishi K, Yamanishi K. Immediate-type contact hypersensitivity is reduced in interleukin-33 knockout mice. *J Dermatol Sci*, 74: 159-61, 2014. (査読有)
DOI: 10.1016/j.jdermsci.2014.01.0009.
4. Imai Y, Yasuda K, Sakaguchi Y, Haneda T, Mizutani H, Yoshimoto T, Nakanishi K, Yamanishi K. Skin-specific expression of IL-33 activates group 2 innate lymphoid cells and elicits atopic dermatitis-like inflammation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110: 13921-6, 2013. (査読有)
DOI: 10.1073/pnas.1307321110.
5. Matsumoto M, Sasaki Y, Yasuda K, Takai T, Muramatsu M, Yoshimoto T, and Nakanishi K. IgG and IgE collaboratively accelerate expulsion of *Strongyloides venezuelensis* in a primary infection. *Infect Immun*, 81:2518-27, 2013. (査読有) DOI:10.1128/IAI.00285-13.
6. Fukuoka A, Futatsugi-Yumikura S, Takahashi S, Kazama H, Iyoda T, Yoshimoto T, Inaba K, Nakanishi K, Yonehara S. Identification of a novel type 2 innate immunocyte with the ability to enhance IgE production. *Int Immunol*, 25:373-82, 2013. (査読有)
DOI: 10.1093/intimm/dxs160.
7. Takahashi S, Futatsugi-Yumikura S, Fukuoka A, Yoshimoto T, Nakanishi N, and Yonehara S. Fas deficiency in mice with the Balb/c background induces blepharitis with allergic inflammation and hyper-IgE production in conjunction with severe autoimmune disease. *Int Immunol*, 25:287-93, 2013. (査読有)
DOI: 10.1093/intimm/dxs109.
8. Shiraishi H, Masuoka M, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Taniguchi K, Aoki S, Toda S, Yoshimoto T, Inagaki N, Conway SJ, Narisawa Y, and Izuhara K. Periostin contributes to the pathogenesis of atopic dermatitis by inducing TSLP production from keratinocytes. *Allergol Int*, 61:563-72, 2012. (査読有)
DOI: 10.2332/allergolint.10-OA-0297.
9. Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, and Yoshimoto T. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*, 130: 184-94, 2012. (査読有)
DOI: 10.1016/j.jaci.2012.02.013.
10. Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Taki Y, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishii KJ, Yoshimoto T, Akira S, and Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109:3451-56, 2012. (査読有)
DOI: 10.1073/pnas.1201042109.

和文総説

1. 善本知広. IL-33 とアレルギー性炎症. 免疫と免疫 22:135-41, 2014. (査読無)
2. 善本知広. アレルギーにおける自然免疫応答. 小児アレルギー学会誌 27:665-73, 2014. (査読有)
3. 松下一史, 善本知広. 顆粒球のアレルギー

- 疾患における新たな役割. 実験医学
31:2759-65, 2013. (査読無)
4. 善本知広. アレルギー性鼻炎における IL-33 の関与. アレルギー・免疫, 20: 2-10, 2013. (査読無)
 5. 善本知広. IL-18 とアレルギー. アレルギー・免疫, 19: 1900-10, 2012. (査読無)
 6. 善本知広. IL-33 とウイルス感染. アレルギーの臨床, 32: 1085-90, 2012. (査読無)
 7. 善本知広. 花粉特異的アレルギー性鼻炎モデルマウスの樹立とその応用. アレルギーの臨床, 32: 812-7, 2012. (査読無)
 8. 善本知広. IL-33 の機能と疾患. 細胞工学, 31:792-9, 2012. (査読無)
 9. 善本知広. IL-33 の機能と炎症性疾患への関与. リウマチ, 47: 684-93, 2012. (査読無)

[学会発表](計 32 件)

招待講演

1. 善本知広. 免疫学から病気を科学する。(特別講演) 第 28 回日本生殖免疫学会学術集会. 2013.12.1 西宮
2. 善本知広. アレルギー性鼻炎研究の最前線。(特別講演) Mukogawa Medical Conference. 2013.11.11 西宮
3. 善本知広. インターロイキン 33: 疾患の発症促進と抑制に關与する多機能サイトカイン。(特別講演) 第 16 回 no Side GI Conference in 堂島. 2013.7.6 大阪
4. 善本知広. IL-33 による自然型および獲得型アレルギーの調節。(特別講演) アレルギー・好酸球研究会 2013. 2013.6.15 東京
5. 善本知広. 肺疾患における IL-33 と 2 型自然リンパ球の役割。(特別講演) 第 10 回肺研究フォーラム 21. 2013.4.20 東京
6. 善本知広. アレルギー性鼻炎と IL-33. (教育講演) 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2013.2.7 倉敷
7. 善本知広. 花粉症と IL-33. (招待講演) 第 66 回日本臨床眼科学会. 2012.10.25 京都

国際学会

8. Yoshimoto T, Ohashi K, Kosaka H, Fujimoto J. Roles of tissue NKT cells in postoperative adhesion formation. Keystone Symposia. Inflammatory Diseases: Recent Advances in Basic and Translational Research and Therapeutic Treatments 2014.1.20 Vancouver, Canada

9. Ohashi K, Yoshimoto T, Kosaka H, Hirano T, Iimuro Y, Nishiguchi S, Nakanishi K, Fujimoto J. Hepatocyte producing plasminogen activator-1(PAI-1) regulates adhesion formation after hepatectomy in a murine model and in patients undergoing hepatectomy. The 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD2013) 2013.11.2 Washington DC, U.S.A.
10. Yasuda K, Muto Tai, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Yoshimoto T, Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in Strongyloides venezuelensis-infected mice. 15th International congress of immunology. 2013.8.3 Mirano, Italy
11. Yoshimoto T, Haenuki Y, Matsushita K, Akira S. A critical role of pollen-driven endogenous IL-33 in allergic rhinitis. 78th COLD SPRING HARBOR LABORATORY Symposium: Immunity & Tolerance. 2013.5.31 Cold Spring Harbor, USA
12. Imai Y, Haneda K, Yasuda K, Yoshimoto T, Nakanishi K, Yamanishi K. IL-33 KO mice exhibit the reduced immediate type contact hypersensitivity. (Work shop) International Investigative Dermatology, 2013.5.10 Edinburgh, UK.
13. Yoshimoto T, Matsushita K, Haenuki Y, Futatsugi-Yumikura S, Fujieda S, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K. A critical role of pollen-driven endogenous IL-33 in allergic rhinitis. (Symposium) JEAACI Congress 2012. 2012.6.18 Geneva, Switzerland

シンポジウム、ワークショップ

計 10 件

一般講演

計 9 件

[図書](計 4 件)

1. Matsushita K & Yoshimoto T. Interleukin-33: A multifunctional alarmin that promotes both health and disease. In: Yoshimoto Takayuki & Yoshimoto Tomohiro. eds. Cytokine Frontiers: Regulation of Immune Responses in Health and Disease, New York: Springer, 267-299, 2013 (査読無)

<http://www.springer.com/biomed/immunology/book/978-4-431-54441-8>.

2. Yoshimoto T & Nakanishi K. Generation and Characterization of Mouse Basophils from Bone Marrow and Purification of Basophils from Spleen. (Coligan, J.E., Kruisbeek, A.M., et al. eds.), In: Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., New York, 98:3.24.1-3.24.16, 2012.(査読有) DOI: 10.1002/0471142735.im0324s98.
3. 善本知広 . 自己免疫疾患とアレルギー . 免疫学コア講義 (坂口薫雄、竹田潔、熊ノ郷淳編) 改訂第 3 版、134-45、南山堂、2012. (査読有) <http://www.nanzando.com/books/16753.php>.
4. 松葉沙織、善本知広. IL-33. サイトカインのすべて(矢田純一、宮坂信之 編) 208-17、科学評論社、2012. (査読無) <http://www.kahyo.com/item/Mzo201205-57S2>

〔 産業財産権 〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : アトピー性皮膚炎モデル動物およびその用途.

発明者 : 今井康友, 善本知広, 中西憲司, 水谷仁, 山西清文

権利者 : 同上

種類 : 特許権

番号 : 特願 2013-96637

出願年月日 : 2013.5.27

国内外の別 : 国内

取得状況 (計 1 件)

名称 : Th2 細胞誘導用組成物および Th2 型疾患の治療組成物、ならびにこれらの利用.

発明者 : 善本知広, 中西憲司

権利者 : 同上

種類 : 特許権

番号 : 特願番号: US 8,440,412 B2

取得年月日 : 2013.5.14

国内外の別 : 国外

6 . 研究組織

(1)研究代表者

善本 知広 (YOSHIMOTO, TOMOHIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 60241171

(2)研究分担者

西崎 知之 (NISHIZAKI, TOMOYUKI)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 00221474

(3)連携研究者 なし