

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月29日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2012

課題番号：24659470

研究課題名（和文） IL-33 と IL-33 受容体の機能解析

研究課題名（英文） Roles of IL-33 and IL-33 receptors in immune responses

研究代表者

中江 進 (NAKAE SUSUMU)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：60450409

研究成果の概要（和文）：

IL-33 の受容体は ST2 と IL-1RAcP のヘテロダイマーからなる。ある種の免疫応答において、IL-33 遺伝子欠損マウスの表現型と ST2 遺伝子欠損マウスの表現型が異なるため、IL-33 には ST2 以外の受容体、もしくは、ST2 には IL-33 以外のリガンドが存在する可能性が示唆されている。本研究では、IL-33 には ST2 以外の受容体が存在するという仮説をもとに、新規 IL-33 結合分子の探索を試みた。

研究成果の概要（英文）：IL-33 induces Th2 cytokines by various types of cells through its receptors, ST2 and IL-1RAcP. In certain immune responses, the phenotypes are known to be inconsistent between IL-33-deficient and ST2-deficient mice, suggesting the existence of the other receptor(s) for IL-33 and/or the other ligand(s) for ST2. In the study, we attempted to identify the binding molecule(s) of IL-33.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アレルギー

1. 研究開始当初の背景

IL-1 受容体には3つのリガンド、二種類のアゴニスト (IL-1 α と IL-1 β) とアンタゴニスト (IL-1R antagonist ; IL-1Ra) 存在する (図)。二つの IL-1 受容体 (IL-1R1 と IL-1R2) のうち、機能的な受容体は IL-1R1 であり、IL-1R2 はデコイ受容体である (図)。したがって、IL-1R1 を介した IL-1 α と IL-1 β の生理作用は、IL-1Ra と IL-1R2 によって巧妙に制御されている。

IL-18 は、IL-18R を介して生理作用を発揮する。IL-18 に結合する分子「IL-18 binding protein: IL-18BP」は、可溶性 IL-18R と同じように IL-18 に結合することにより、IL-18/IL-18R による機能の阻

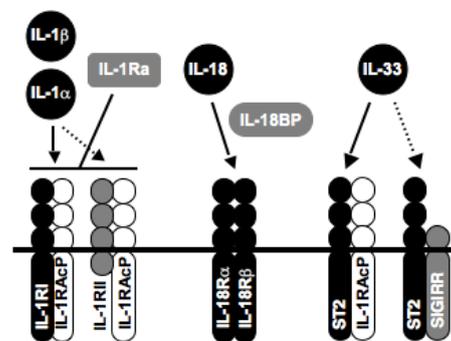


図 IL-1 & IL-1R family

害効果を発揮する (図)。

IL-33 に関しては、その受容体として ST2/IL-1RAcP と ST2/SIGIRR (J Immunol,

182, 2601, 2009)のヘテロダイマーが同定されている(図)。しかしながら、敗血症ショックに対する感受性は、ST2 欠損マウス(未発表)とSIGIRR 欠損マウス(Nat Immunol, 7, 946, 2006)は易感受性(死にやすい)だが、IL-33 欠損マウスは抵抗性(死にくい)(Proc Natl Acad Sci USA, 107, 18581, 2010)という正反対の表現型を示す。同様なことは IL-18 欠損マウスと IL-18R 欠損マウスでも実験的脳脊髄炎モデルにおいて観察されており(Nat Immunol, 7, 946, 2006)、IL-18 には未知の受容体あるいは IL-18R には未知のリガンドの存在が示唆されている。IL-33 欠損マウスと ST2 /SIGIRR 欠損マウスの表現型の矛盾の背景には、IL-1 には、IL-1Ra や IL-1R2 のような阻害分子が、IL-18 には IL-18BP のような阻害分子が存在し、その生理作用が巧妙に制御されていることから鑑みて、IL-33 にもこれまでに知られていない制御システムの存在があることを伺わせる。

2. 研究の目的

ある種の免疫応答において、IL-33 遺伝子欠損マウスの表現型と ST2 遺伝子欠損マウスおよび SIGIRR 遺伝子欠損マウスの表現型が異なるため、IL-33 には ST2 や SIGIRR 以外の受容体、もしくは、ST2 には IL-33 以外のリガンドが存在する可能性が示唆されている。本研究では、IL-33 には ST2 以外の受容体が存在するという仮説をもとに、新規 IL-33 結合分子の探索を試みた。

3. 研究の方法

IL-33 は、二次元のアミノ酸配列の相同性による検索では同定が困難で、コンピューターによる三次元的構造解析により同定された背景より、新規 IL-33 結合分子の同定にも、三次元的に IL-33 に結合する分子を捕捉する手法を用いる。また、ST2 以外に IL-33 に結合する分子を捕捉するために、ST2 欠損マウス由来の組織抽出液を利用する。

(1) リコンビナント IL-33 の作成

IL-33 に結合する分子を探索させるプローブとして、His 付きのリコンビナント IL-33 を作成する。常法により、全長 IL-33 タンパク質を発現するベクターを作成し、哺乳動物細胞株に形質導入して、トランスフェクタントを樹立する。そのトランスフェクタントより、His 付きのリコンビナント IL-33 を大量に回収し、カラムにて精製する。

(2) 新規 IL-33 結合分子の同定

His 付きのリコンビナント IL-33 を結合できる磁気ビーズに、His 付きのリコンビナント IL-33 を吸着させた後、ST2 欠損マウスから回収した組織溶解液(肺、肝臓、腸管など)と混合し、ST2 以外に IL-33 に結合する新規分子を捕捉する。その後、結合しなかった/非特異的な結合タンパク質を洗い流した後、リコンビナント IL-33 に結合している候補分子のアミノ酸配列を MS/MS-LC 解析により明らかにする。

4. 研究成果

(1) リコンビナント IL-33 の作成

形質導入した哺乳動物細胞株の培養上清中リコンビナント IL-33 を精製するために、カラムに吸着させ、溶出を行ったところ、リコンビナント IL-33 は凝集してしまい、可溶化させることができなかった。そこで、代替法として、大腸菌内で発現させ、リコンビナント IL-33 を大量調整する方法を進めている。

(2) 新規 IL-33 結合分子の同定

(1) リコンビナント IL-33 の作成において、リコンビナント IL-33 の大量調製が予定通りに進まなかったため、遂行できなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中江 進 (NAKAE SUSUMU)
東京大学・医科学研究所・准教授
研究者番号：60450409

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

南部 あや (NAMBU AYA)
東京大学・医科学研究所・特任研究員
研究者番号：10456197