

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	羅 宏敏
論文審査担当者	主 査 谷口 俊一郎 副 査 鈴木 龍雄 ・ 田淵 克彦
論文題目	An interleukin-33 gene polymorphism is a modifier for eosinophilia in rats (インターロイキン 33 遺伝子多型はラットにおける好酸球増多症の修飾因子である)
<p>[背景と目的] Matsumoto Eosinophilia Shinshu(MES)系ラットは末梢血における好酸球増多、および多くの臓器における好酸球浸潤炎症性病変を遺伝的に自然発症するモデル動物である。以前の(ACI×MES)×MES 戻し交雑ラット集団を用いた解析により、好酸球増多症の主要原因遺伝子が第 19 染色体上に、さらに末梢血中の好酸球数に影響する修飾遺伝子が第 1 染色体上に存在することが明らかとされた。その後の研究で好酸球増多症の原因は MES 系ラット系統の第 19 染色体上の Cytochrome b-245, alpha polypeptide (<i>Cyba</i>)遺伝子の機能喪失型突然変異であることが明らかとされた。第 1 染色体上の修飾遺伝子に関しては、ACI 型の対立遺伝子が血中好酸球数を低下させる効果を有することが判ったが、その遺伝子は明らかとされていなかった。第 1 染色体上に存在するインターロイキン 33 (Interleukin-33; <i>Il33</i>) 遺伝子にコードされる IL-33 は、感染や傷害によって細胞死が起きた際に細胞外に放出されて炎症反応を惹起する活性をもつ、いわゆる”alarmin”であり、ヒトやマウスにおいて好酸球制御にも深く関与することが報告されていた。そこで本研究では、ラット系統間の <i>Il33</i> 遺伝子の塩基多型検索、IL-33 蛋白の活性調査、および <i>Cyba</i> 遺伝子と <i>Il33</i> 遺伝子との相互作用の解析を行い、<i>Il33</i> 遺伝子が好酸球増多症に対する修飾因子である可能性を検証した。</p> <p>[結果と考察] <i>Il33</i> 遺伝子の cDNA の塩基配列を決定した結果、MES 系ラットと ACI 系ラットの間でミスセンス塩基置換が同定された。すなわち、171 番目のコドンの第 1 塩基が MES では G(Ggt)、ACI では A(Agt)であるために、171 番目のアミノ酸がグリシン(MES)からセリン(ACI)へ G171S 置換されることが予測された。IL-33 は細胞内でカスパーゼ 3 による切断を受けて不活性化される。G171S アミノ酸置換はカスパーゼ 3 による認識部位内に存在した。他のラット系統をスクリーニングした結果、ACI 系ラットと同一の塩基置換は BDIX 系ラットにも見つかったことより、この塩基置換は ACI 系ラットに特異的な変異ではなく、ラット系統間に保有される多型であることが判明した。大腸菌強制発現系を用いて MES 型、および G171S アミノ酸置換を含む ACI 型のリコンビナント IL-33 蛋白を調整し、その活性を調査した。HEK293 培養細胞を用いた NF-κB 依存性レポーターアッセイにおいて、ACI 型 IL-33 により惹起される NF-κB 活性は MES 型 IL-33 の約 50%程度にとどまることが確認された。また、マウスに腹腔内投与した場合、ACI 型 IL-33 投与群での末梢血中好酸球数の上昇程度は MES 型 IL-33 投与群と比較して有意に低かった。G171S アミノ酸置換を有する ACI 型 IL-33 もカスパーゼ 3 により切断されることが確認された。(ACI×MES)×MES 戻し交雑ラット集団において、変異型 <i>Cyba</i>^{mes} 遺伝子の <i>Il33</i> 遺伝子多型に対する epistasis 効果が確認された。すなわち、変異型 <i>Cyba</i>^{mes} 遺伝子をホモにもつ群では ACI 型の <i>Il33</i> 遺伝子をヘテロでもつ個体の方が MES 型のホモ個体よりも有意に低い末梢血中好酸球数をもっていた。一方、変異型 <i>Cyba</i>^{mes} 遺伝子をヘテロでもつ群では ACI 型の <i>Il33</i> 遺伝子をヘテロでもつ個体と MES 型のホモ個体との間で末梢血中好酸球数に有意差は認められなかった。この結果は、<i>Il33</i> 遺伝子多型の効果が戻し交雑ラット集団において alarmin 活性の違いとして観察されたことを示唆した。</p> <p>[結論] 以上の結果から、インターロイキン 33 遺伝子多型はラットにおける好酸球増多症の修飾因子であると結論された。</p>	