

平成 30 年 3 月 28 日

## 平成 29 年度科学研究費補助金学内奨励金研究成果報告書

武庫川女子大学  
武庫川女子大学短期大学部  
学長 糸魚川 直 祐 様

所属・職 薬学部・准教授

氏 名 内山 良介 印

(予算科目: 219\_08 特[研]奨励\_内山 )

平成 29 年度に採択された科学研究費補助金学内奨励金研究について、次の成果を得ましたので報告いたします。

### 記

- 1 研究課題名 [Fas依存的な炎症応答による新規ヘルパーT細胞の誘導と細菌感染防御における役割]
- 2 平成 30 年度 科研費に応募した研究種目名称 [ 基盤研究 C ]
- 3 研究成果概要 (800字以上 )

細胞のFasシグナル経路はアポトーシスの誘導に重要な役割を担っている。一方、申請者は、マクロファージのFasシグナルが、炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ の産生を惹起することを見出している。さらに、この炎症応答が実際の細菌感染で誘導されることを報告した。そのため、このFasシグナルを介した新規炎症応答は、細菌感染防御において重要な役割を果たす可能性があるが、その詳細なサイトカイン産生メカニズムや、実際の感染防御における役割は不明であった。そこで、本研究課題では、Fasシグナルを介したマクロファージからの炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ の産生メカニズムを解明するために実験を行なった。

まず、in vitroにおけるFas依存的なIL-1 $\beta$ 産生の実験系を確立するために、マウス由来マクロファージ系培養細胞であるRAW264.7細胞を用いて検討を行なった。RAW264.7細胞は、定常状態ではIL-1 $\beta$ やFas受容体の遺伝子は発現が認められないが、LPS刺激に応じて有意にIL-1 $\beta$ およびFasの遺伝子発現が上昇した。一方、翻訳により産生されるIL-1 $\beta$ は炎症性サイトカインとしては機能しない不活性型であり、細胞外へも分泌されないことが知られている。また、活性型IL-1 $\beta$ の産生には、システインプロテアーゼの一種であるカスパーゼの存在(活性化)が必須であることが知られている。実際、LPSのみの刺激では、IL-1 $\beta$ の遺伝子発現は上昇するものの、細胞外への活性型IL-1 $\beta$ 分泌は認められなかった。

そこで、マウス由来T細胞系細胞株であるL5178Y細胞に、FasL遺伝子を強制発現させ、細胞膜上にFasLを発現させた細胞株を調整した。LPS刺激したRAW264.7細胞に対し、このFasL発現細胞株を用いてFasシグナル系を活性化し、細胞外へ分泌されるIL-1 $\beta$ 濃度を測定した。その結果、FasL刺激したRAW264.7細胞においてのみ、活性型IL-1 $\beta$ 産生が認められた。以上より、Fasシグナル経路の下流で活性化したカスパーゼ8が、IL-1 $\beta$ 前駆体を切断して活性型とし、活性型IL-1 $\beta$ が細胞外へ分泌されたと考えられる。

一方、IL-1 $\beta$ には細胞外へ分泌されるために必要な分泌シグナル(シグナルペプチド)が存在しないことが知られており、活性型IL-1 $\beta$ がどのようなメカニズムで細胞外へ分泌されるのか不明であった。近年、ガスデルミンというタンパク質が、炎症に応じてマクロファージの細胞膜に孔を形成し、その孔を介して活性型IL-1 $\beta$ が細胞外へ分泌されることが明らかになった。今回、Fasシグナル依存的なIL-1 $\beta$ 産生においても同様のメカニズムが関与するのかが検討するため、RAW26.74細胞におけるガスデルミンの発現をウェスタンブロット法で解析した。その結果、LPS刺激に応じてガスデルミンのタンパク質が検出されたが、これは孔を形成しない不活性型のものであった。一方、FasL刺激したRAW264.7細胞では、切断型ガスデルミンが検出された。先行する研究報告において、ガスデルミンは活性型カスパーゼによって切断され、孔を形成しうる形態へと変換されることが報告されている。以上より、FasL刺激に応じて切断されたガスデルミンが細胞膜に孔を形成し、活性型IL-1 $\beta$ が分泌されたものと考えられた。

上記を踏まえて考察すると、RAW264.7細胞は、LPS刺激に応じて炎症応答に必要な遺伝子発現を誘導し、炎症の準備を行う。しかし、最終的に炎症性サイトカインIL-1 $\beta$ を分泌して炎症を惹起するには、FasLによるFasシグナルの活性化が必要であることが明らかになった。Fasシグナルによって活性化したカスパーゼが、一連のタンパク質分解シグナルを介して炎症惹起の引き金を引く全容の一部が明らかになった。

- 4 公開した研究成果(学術論文・口頭発表等) 有  無

※「有」の場合は、論文抜刷、口頭発表要旨等を添付してください。

(注1) 本紙に様式6号を添付のうえ所属長に回覧後、提出してください。

(注2) 平成29年度報告書の研究開発支援課の受付期日は平成30年3月29日(木)とします。

(注3) 提出のあった様式7号は、一部マスキングのうえPDF化してそのままホームページに公開します。

(注4) 提出されない場合は科研費学内奨励金規程第17条違反として第19条に基づき奨励金を返還いただきます。