

分担研究報告書

消化管上皮細胞に対する IL-4, IL-13 の機能的影響に関する検討

分担研究者 出原賢治 佐賀医科大学医学部生化学講座教授

**研究要旨** インターロイキン 4(IL-4), IL-13 は気管支喘息, アトピー性皮膚炎などのみならず, 食物アレルギーにも関与していると考えられている. 本研究では, 食物アレルギーの消化管部位において, アレルゲン特異的 T 細胞がアレルゲンの侵入により IL-4, IL-13 が産生され, 消化管上皮細胞に作用して病態形成を引き起こしている可能性について解析を行うことを目指した. 本年度は IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖(IL-13R $\alpha$ 1), IL-13R $\alpha$ 2 を強制発現させた細胞株を樹立してレポーター遺伝子を用いて IL-4, IL-13 のシグナル伝達を定量化すること, 消化管上皮細胞における IL-4, IL-13 のレセプター発現を組織染色により確認することを行った. その結果, シグナル伝達を担っている IL-13R $\alpha$ 1 と異なり, IL-13R $\alpha$ 2 はシグナル伝達に対して抑制的に働くことが判明した. さらに, 胃と小腸のどちらの組織においても上皮細胞の中の小窩細胞, 腺細胞において IL-4R $\alpha$ と IL-13R $\alpha$ 1 の発現が認められた. これらのことより, 消化管上皮細胞において IL-4 と IL-13 の両方のレセプターが発現しており, IL-4 と IL-13 が何らかの生物活性を引き起こすと考えられた.

**A. 研究目的**

気管支喘息やアトピー性皮膚炎など多くのアレルギー疾患において, Th2 サイトカインが重要な役割を持っていることはよく知られている. Th2 サイトカインの中でも, 特にインターロイキン 4 (IL-4), IL-13 は, 直接気管支上皮細胞などの局所の非免疫細胞に作用して, 杯細胞への分化などのアレルギー病態を形成すると考えられている. 一方で, 食物アレルギー患者の血清中において IL-4 が増加しており, アレルゲン特異的 T 細胞からの IL-4, IL-13 産生が増強されていることなどが報告されている. これらのことより, 食物アレルギー患者の消化管部位において, アレルゲン特異的 T 細胞がアレルゲンの侵入により IL-4, IL-13 を産生し, これらのサイトカインが消化管上皮細胞に作用して何らかのアレルギー疾患の病態形成を引き起こしている可能性が考えられる. この可能性を明らかにするために, 消化管上皮細胞に対する IL-4, IL-13 の機能的影響について解析を行うことを目指した.

**B. 研究方法**

IL-4, IL-13 のレセプター構成成分のシグナル伝達に対する影響を解析するために, IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖, IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖を強制発現させた細胞株を樹立した. これらの細胞株には予め転写因子である STAT6 結合部位を含む IL-4, IL-13 反転性遺伝子部位をルシフェラーゼ遺伝子に結合させたレポーター遺伝子が発現させ, IL-4, IL-13 のシグナル伝達を定量化できるようにした.

また, 消化管上皮細胞が IL-4, IL-13 に対するレセプターを発現しているか確認を試みた. 剖検組織より消化管組織標本を得て, 抗 IL-4 レセプター $\alpha$ 鎖抗体, 抗 IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖抗体を用いて組織染色を行った.

**C. 研究結果**

細胞株には内因性の IL-4 レセプター $\alpha$ 鎖が発現しており, これに IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖を強制発現させると, IL-4 のみならず, IL-13 のシグナルも伝達されるようになった. しかし, IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖を強制発現させた場合には, IL-13 のシグナルは伝達されるようにはならなかった. また, IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖を強制発現させた細胞株に, さらに IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖を強制発現させると, IL-4 シグナルには影響はないものの, IL-13 シグナルが抑制されるようになった.

組織染色により IL-4 と IL-13 のレセプター構成成分の発現を解析したところ, 胃と小腸のどちらの組織においても上皮細胞の中の小窩細胞, 腺細胞において IL-4 レセプター $\alpha$ 鎖と IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖の両方の発現が認められた. IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖の発現に関しては現在解析を行っている.

**D. 考察**

シグナル伝達の解析により, IL-4 レセプター $\alpha$ 鎖と IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖から成るレセプターは, IL-4 と IL-13 の両方のシグナルを伝達しうることが判明した. 一方, IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖は IL-13 シグナルに対して抑制性レセプターとなることも判明した. 実際, 消化管上皮細胞において IL-4 レセプター $\alpha$ 鎖と IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖が発現していることから, IL-4 と IL-13 はこれらの細胞に対して何らかの生物活性を引き起こすと考えられた. そして, IL-13 レセプター $\alpha$ 1 鎖と IL-13 レセプター $\alpha$ 2 鎖の発現のバランスによって, IL-13 シグナルが生体内で調節されている可能性が示唆された. 今後, 消化管上皮細胞に対する IL-4 と IL-13 の生物活性を明らかにして, 食物アレルギーの病因