

様 式 F - 7 - 1

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 26 年度）

1. 機 関 番 号      1   4   6   0   3      2. 研究機関名      奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名      基盤研究(C)      4. 補助事業期間      平成 26 年度～平成 28 年度
5. 課 題 番 号      2   6   4   6   0   3   6   8
6. 研究課題名      免疫応答における生体内のPIKfyveの役割の解明

## 7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
6   0   5   8   4   4   1   4	カワサキ タクミ 川崎 拓実	バイオサイエンス研究科	助教

## 8. 研究分担者

研究 者 番 号	研究 分 担 者 名	所属研究機関名・部局名	職 名

## 9. 研究実績の概要

ホスファチジルイノシトールは、生体において様々な役割を担う脂質グループであり、免疫応答においても重要な役割を果たしていると考えられる。最近、イノシトールリン脂質の一種ホスファチジルイノシトール5リン酸が、ウイルス感染に対する自然免疫応答の制御に関与することを明らかにしたことから、ホスファチジルイノシトール5リン酸の免疫応答における生体内での役割を明らかにするため、その主な代謝酵素であるホスファチジルイノシトール-リン酸化酵素；PIKfyveのノックアウトマウスを作製し、解析を行っている。

これまで、PIKfyveをノックアウトするため、部位得的ノックアウトが可能なPIKfyveのエキソン5をloxP配列で挟んだPIKfyve floxマウスを作製し、マクロファージ、及び好中球でノックアウトするためこれら細胞系に得的にcreリコンビナーゼを発現させるlysm-creマウスと掛け合わせ作製を行った。その後、個体マウスから骨髓幹細胞を取り出しマクロファージに分化させ、解析を行う。また、生体内における役割を明らかにするため、感染実験等を適応することにより、マクロファージ、好中球での役割を明らかにする

## 10. キーワード

(1) 自然免疫

(2) イノシトールリン脂質

(3) PIKfyve

(4) アレルギー

(5)

(6)

(7)

(8)

## 11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

これまで、十分な数の解析可能な個体マウスが得られたため、個体マウスにおける解析を開始した。初めに、各組織におけるマクロファージ、好中球の浸潤割合、また、活性化を調べたところ、PIKfyve-koマウスにおいて肺のマクロファージ特異的に分化抑制が起きていることが明らかになった。肺のマクロファージ特異的に何らかの機能が欠損していることが明らかになったことから、さらにダニの抗原部位を用いたアレルギー誘発実験を行ったところ、欠損マウスは、コントロールマウスに比べアレルギー状態が増悪化することが分かった。解析が順調に進んでいることからおおむね順調に進行していると考えている。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

これまでの研究でPIKfyve koマウスでは、肺のマクロファージ特異的に何らかの機能阻害をおこすことにより表現型が現れることが明らかとなった。これまでの研究でPIKfyveを全身性で欠損すると発生の早い段階で胎生致死になることから、比較的細胞特異的に表現型が現れるのは興味深い。今後は、肺マクロファージにおけるPIKfyveの役割を明らかにすることで、免疫応答におけるイノシトールリン脂質の役割を明らかにする。

ダニの抗原を用いたアレルギーモデルでは、欠損マウスで増悪化したことから、今後どのようなメカニズムで増悪化しているかを調べる。まず、アレルギー誘導後に肺胞内洗浄液から、どのような免疫細胞が浸潤しているのか調べる。また、肺の切片を作製し、免疫染色により肺への細胞浸潤を調べる。肺のマクロファージはフローサイトメーターにより分離し、分離した細胞をダニ抗原で刺激し、誘導されてくる遺伝子の発現をジーンチップ、リアルタイムPCRにより解析を行う。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

ほぼ計画どおりに実験を遂行したが、一部実験計画に変更があったため、必要以上に試薬を購入する必要がなかった。

(使用計画)

今年度分の余剰分と本年度の申請額とを合わせて計画を遂行する。

FACS消耗品、マウス維持、抗原、リアルタイムPCR試薬などの消耗品を中心として予算を使用する予定である

## 13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計( 0 )件    うち査読付論文 計( 0 )件

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
			<div></div> <div></div> <div></div>	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				

(学会発表) 計( 1 )件    うち招待講演 計( 0 )件

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Takumi Kawasaki, Rika Tanaka, Kosuke Ito, Shizuo Akira and Taro Kawai	Physiological role of the lipid kinase PIKfyve in innate immune responses	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第43回日本免疫学会	2014年12月10日～2014年12月12日	国立京都国際会館(京都市)

(図書) 計( 0 )件

著 者 名	出 版 社	
書 名	発行年	総ページ数
	<div></div> <div></div> <div></div>	

## 14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計( 0 )件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計( 0 )件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考