

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 27 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)（一般） 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-リン酸化酵素；PIKfyveの生体内での役割を明らかにするため、PIKfyveのエキソン 5 をloxP配列で挟んだPIKfyve floxマウスを作製し、マクロファージ特異的に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を行った。その後、マクロファージ特異的にノックアウトマウスを作製し、解析を行った。これまで、さまざまな組織における組織マクロファージの割合について調べたところ、肺に存在するマクロファージの割合が減少していることが明らかになった。肺には主に 2 種類のマクロファージが存在し、協調的に作用することにより、病原体排除と恒常性維持に寄与していることが知られている。PIKfyve欠損マウスでは、そのうち肺胞マクロファージとよばれる細胞の増殖が抑制され、分化になんらかの異常があることが示唆された。

## 10. キーワード

(1) PIKfyve

(2) マクロファージ

(3) 肺

(4) 炎症

(5)

(6)

(7)

(8)

## 11. 現在までの進捗状況

( 区分 ) ( 2 ) おおむね順調に進展している。

( 理由 )

これまで、十分に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かかっ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、ko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。そこで、まず肺胞マクロファージの分化阻害のメカニズムを明らかにするため、さまざまな胎児期における肺を摘出し、PIKfyve欠損マクロファージがどの段階で阻害を受けているのかを調べた。その結果、胎児期における初期のマクロファージの増殖と分化には影響がないものの、出生後3日以降のマクロファージの分化が阻害されていることが明らかとなった。

## 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。また、詳しく調べることにより胎児期初期における分化増殖には影響がないものの、出生後3日以降の分化増殖に盈虚があることが明らかとなった。そこで今後は、どのようなメカニズムで分化阻害されているかを明らかにする。ダニの抗原を用いたアレルギーモデルでは、ko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明らかにする。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。初期の解析では、肺に浸潤している抑制性T細胞の割合が減少していることが示唆されている。

( 次年度使用額が生じた理由と使用計画 )

( 理由 )

マウス施設の大規模修繕のため、一時的にマウスの使用が抑制されたため、予定より実験が繰り越しされたため

( 使用計画 )

今年度はマウス施設があらたに稼働したため、繰り越された実験及び本年度予定していた実験を行う。

( 課題番号 : 26460368 )

( 注 ) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

## 13.研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(0)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著 計(0)件/うちオープンアクセス 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	国際共著	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

(学会発表) 計(3)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発 表 者 名		発 表 標 題	
川崎 拓実、河合 太郎		Role of the lipid kinase PIKfyve in alveolar macrophage	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第44回日本免疫学会	2015年11月18日 ~ 2015年11月20日	札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)	

発 表 者 名		発 表 標 題	
川崎 拓実		生体内由来の新しい免疫賦活化剤	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
イノベーションジャパン2015	2015年08月27日 ~ 2015年08月28日	東京ビックサイト(東京都江東区)	

発 表 者 名	発 表 標 題	
川崎 拓実	ウイルス感染防御におけるイノシトールリン脂質の役割	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
感染コンピテンシ研究班第7回領域会議	2015年12月15日 ~ 2015年12月16日	筑波大学 東京キャンパス文京校舎 (東京都文京区)

(図書) 計(0)件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発行年	総ページ数	

## 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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1)国際共同研究： -

17.備考