

【目的】 Rab ファミリー分子による 2 型慢性アレルギー性炎症病態制御機構を、特に CD4 T 細胞におけるオートファジーに着目して解明する。さらに、我々が新規に合成した Rab 結合化合物 SH-2251/AT-523 をプロトタイプとしてサブタイプ選択的な Rab 結合低分子化合物を創製することで、Rab 機能の調節を介した慢性アレルギー性炎症根治のための新たな治療戦略と新規創薬シーズの提示を目指す。

【方法】 AT-523 誘導体をアフィニティー樹脂に固定したカラムを用いて、結合タンパク質を分離し、質量分析でタンパク質を同定した。質量分析によって同定された、Rab ファミリー分子と AT-523 誘導体の結合を Biacore により確認した。In vitro 培養系で、SH-2251/AT-523 の結合が確認された Rab1A、Rab1B、Rab5C、Rab8A、Rab10、Rab11B および Rab35 をレトロウイルスベクターで活性化 CD4 T 細胞に導入し、IL-4、IL-5、IL-13 産生細胞分化を指標に Th2 細胞分化における Rab ファミリー分子の役割を検討した。また、Th2 細胞分化におけるオートファジーの役割を解析するため、クラス PI3 キナーゼの抑制を介してオートファジーを阻害する 3-methyladenine (3-MA) を添加し、in vitro Th2 細胞分化に与える影響を検討した。加えて、病原性 Th2 細胞のマーカーである IL-33 受容体 α 鎖 (IL-33R α) の IL-7/IL-33 依存的な発現誘導に対する、3-MA の作用についても in vitro で解析した。さらに、3-MA が Th1、Th17 細胞分化、Foxp3 陽性 iTreg 細胞分化に及ぼす影響についても、in vitro 分化系を用いて解析した。

【結果】 検討した Rab ファミリー分子の中で、Rab8A および Rab35 の導入により、IL-5 産生 Th2 細胞、IL-13 産生 Th2 細胞分化の低下が認められた。一方、IL-4 産生 Th2 細胞への分化は、Rab8A および Rab35 の導入では影響を受けなかった。また、3-MA の添加によっても IL-5 産生 Th2 細胞、IL-13 産生 Th2 細胞への分化が顕著に低下したが、IL-4 産生 Th2 細胞分化への影響はほとんど認められなかった。さらに、IL-7/IL-33 依存的な IL-33R α の誘導も 3-MA によって低下した。IL-7/IL-33 依存的 IL-33R α 発現の低下は、別のオートファジー阻害薬である Bafilomycin A1 によっても認められた。3-MA は、Th17 細胞分化も抑制したが、Th1 細胞分化、Foxp3 陽性 iTreg 細胞分化は抑制しなかった。Rab8A および Rab35 は、オートファジーの制御に関わっていることが報告されている分子であるが、活性化 T 細胞のオートファジーにおける役割は不明である。今後は、Rab8A および Rab35 の CD4 T 細胞オートファジーにおける役割を明らかにしたいと考えている。

Rab ファミリー分子によるオートファジーを介した慢性アレルギー性炎症の制御 (仮説)

