Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

Evolution of interleukin-18 binding proteins and interleukin-1receptor type II proteins

渡邊，誠

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2006-07-12
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
乙2891
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002891

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

【 164 】

氏　　名・（本　籍）	渡邊　　誠	（　京都府　）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）	
学　位　記　番　号	博ろ第1981号	
学位授与の　要　件	学位規則第５条第１項該当	
学位授与の　日　付	平成18年7月12日	

【 学位論文題目 】

Evolution of interleukin-18 binding proteins and interleukin-1 receptor type Ⅱproteins
（インターロイキン18結合タンパク質とインターロイキン１受容体，Ⅱ型タンパク質の進化に関する研究）

審　査　委　員

主 査　教　授　林　　祥剛
教　授　松尾　雅文
教　授　西尾　久英

はじめに

インターロイキン 18（Interleukin-18, 以下 IL-18）は炎症をコントロールする重要なサイトカインの１つである。発見当初、IL-18 は INF-γ誘導因子として感染防御や抗アレルギー作用などの働きを持つことが注目されたが、近年、それとは逆に気管支喘息、関節リウマチ、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患の発症に関与することや、動脈硬化症の進行に関与することなどが報告されている。また、インターロイキン 18 結合タンパク質（Interleukin-18 Binding Protein, 以下 IL-18BP）は、IL-18 に結合してその活性を不活化するタンパク質である。これまでに、IL-18BP が IL-18 受容体とは異なったものであることや、ヒトやマウスの産生する IL-18BP は IL-18 に結合してその活性を阻害することなどが報告されている。

本研究は、IL-18BP による血中や局所の IL-18 レベルをコントロールする可能性を探るための基礎的な資料を得る目的のもとに行われた。

方法

ヒト IL-18BP アミノ酸配列（gi|10835224）を用いてこの配列と有意な相同性を示すタンパク質を NCBI(National Center for Biotechnology Informatics, USA）にアクセスして検索、収集した。相同性を示すタンパク質の検索には PSI-BLAST (Position Specific Iterated-Basic Local Alignment Search Tool) を用いて３回連続して検索を行い、有意（e-value: 0.001 以下）な相同性を示すタンパク質を収集した。また、TBLASTN プログラムを用いて NCBI データベースにある核酸配列をアミノ酸配列に変換後、ヒト IL-18BP に相同性を示す配列を検索、収集した。収集した核酸配列は必要に応じてアミノ酸配列に翻訳した。

ヒト IL-18BP に有意な相同性を示すタンパク質を収集後、これらタンパク質のアミノ酸配列の比較解析には多重整列を行うプログラム Clustal W を利用した（DDBJ: DNA Data Bank of Japan)。系統樹作成には Clustal W、MEGA version 2.2、NJ 法(neighbor-joining）を利用した。

結果及び考察

IL-18BP ファミリーの検索、収集

PSI-BLAST や TBLASTN プログラムを利用して NCBI データベースを検索した結果、24 種類のタンパク質がヒト IL-18BP と相同性を示す事が判明した。この内、11 種類は脊椎動物由来で、13 種類はウイルス由来のタンパク質であった。脊椎動物由来 IL-18BP、11 種類のうち、ウマ、ウシ、ニワトリ、カエル、サンショウウオ、マス、ナマズ、フグ由来の 8 種類と、ウイルス由来 IL-18BP、13 種類のうち、ウサギポックスウイルス（Rabbitpox virus)、ヤギポックスウイルス（Goatpox virus）由来の２種類は、この研究によって新たに IL-18BP ファミリーに加えられた。また、ヒト IL-18BP 様タンパク質をコードする 13 種類のウイルスは全てポックスウイルスに属する DNA ウイルスであった。

IL-18BP ファミリーのアミノ酸配列の比較

Xiang & Moss らによって、ヒト IL-18 と IL-18BP 間の相互作用が詳細に解析されており、その結果、ヒト IL-18BP の C シート内にあるフェニルアラニン F93、チロシン Y97、ロイシン L99 と、D シート内にあるフェニルアラニン F104、グルタミン酸 E106、ロイシン L108、グルタミン酸 E114 の７種のアミノ酸残基が IL-18 との結合には重要な働きをしており、中でもチロシン Y97 とフェニルアラニン F104 は結合に必須であると報告されている。本研究では、収集した 24 種類の IL-18BP の内、23 種類で IL-18 結合部位を取り上げ、その部位のアミノ酸配列を整列して相同性を比較検討した。その結果、Xiang & Moss らの示した７種のアミノ酸残基は、生物種を越えてよく保存されていることが明らかになった。

本研究で IL-18BP ファミリー・メンバーとして解析した 23 種類の IL-18BP 中、ヒト IL-18 を不活化するかどうか不明であった 15 種類の内で、ウシ、ウマ、サルポックスウイルス（Monkeypox virus)、ウサギポックスウイルス由来の４種類の IL-18BP では全て、上記の７アミノ酸残基が完全に保存されていたことから、ヒト IL-18 を不活化する能力があると推定した。

伝染性軟属腫ウイルス（Molluscum contagiosum virus）がコードする IL-18BP ではヒト IL-18 結合部位として重要な 7 種のアミノ酸残基の内、チロシン Y97 とフェニルアラニン F104 を含む５種類のアミノ酸残基は保存されているが、フェニルアラニン F93 とロイシン L99 の２つのアミノ酸残基が、それぞれバリン V93 とイソロイシン I99 に置換されていた。それにもかかわらずこのタンパク質はヒト IL-18 を不活化すると報告されている。

本研究で IL-18BP ファミリー・メンバーの１つとして解析したニワトリ由来の IL-18BP では７種類のアミノ酸残基の内、６残基は完全に保存されていたが、結合に重要なアミノ酸の１つ、フェニルアラニン 93F がロイシン 93L に置換されていた。フェニルアラニンとロイシンは性質の異なるアミノ酸で

はあるが、伝染性軟属腫ウイルスがコードする IL-18BP ではフェニルアラニン F93 がバリン V93 に置換されているにもかかわらずヒト IL-18 を不活化することが報告されているため、ニワトリ由来の IL-18BP においてフェニルアラニン 93F がロイシン 93L に置換されていても、ロイシン 93L はバリン V93 と性質の良く似たアミノ酸であることから、ニワトリ IL-18BP はヒト IL-18 を不活化する能力があると推定した。

IL-18BP ファミリーの系統樹

本研究で得られた 24 種類の脊椎動物およびウイルス由来の IL-18BP について、そのアミノ酸配列を比較整列後 IL-18BP ファミリーの系統樹を作成した。

ヒト、マウス、ラットの IL-18BP 遺伝子はいずれも複数のイントロン、エクソンから構成されているが、これに対してウイルスが持つ IL-18BP 遺伝子はいずれも１つのエクソンで構成されており、イントロンは存在しない。ウイルスはその IL-18BP 遺伝子を宿主であるヒトやマウス、ラットの遺伝子を取込んで自らの遺伝子にしたと考えられるにも関わらず、ウイルスの IL-18BP 遺伝子にはイントロンは存在しない。従って、脊椎動物の遺伝子をウイルスに取込む過程でイントロンが取り除かれたと考えられ、レトロポジションによって脊椎動物の遺伝子がウイルスゲノムに転位したと考えられる。我々の作成した系統樹から、この様な転位は鳥類から哺乳類が分岐した後で、哺乳類の IL-18BP 遺伝子が霊長類、有蹄類、げっ歯類に分岐する以前に独立に２度起こった可能性が示唆された。更に、作成した系統樹からポックスウイルスが産生する IL-18BP は３種類に分類出来ることが明らかになった。

IL-18BP と IL-1R2（インターロイキン１受容体、Ⅱ型タンパク質）の祖先遺伝子

サンショウウオ、カエル、マス、フグがヒト IL-18BP に良く似たタンパク質を産生することを見出したが、同時にこれらのタンパク質が脊椎動物の産生する IL-1R2 に似ている事を見出した。この事実は、IL-18BP と IL-1R2 が共通の祖先遺伝子に由来する事を示唆することから、この点を明らかにする為にサンショウウオ、カエル、マス、フグの IL-18BP のアミノ酸配列と相同性を示すタンパク質を NCBI データベースで検索した。その結果、新たに５種類の良く似ているが異なるタンパク質をサンショウウオ、マス、ナマズ（２種）、フグなどで見出した。これらの新たに見出された５種類のタンパク質に、ヒト、サル、ウマ、マウス、ラット由来の IL-1R2、更にヒト、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ニワトリ由来の IL-18BP も加えて系統樹を作成した結果、IL-18BP 遺伝子と IL-1R2 遺伝子は共通の祖先遺伝子から、おそらく、魚類の時代に分岐した事が推定された。

683

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	乙 第１９８３号	氏　名	渡邊　誠
論文題目 Title of Dissertation	Evolution of interleukin-18 binding proteins and Interleukin-1 receptor, type II proteins インターロイキン１８結合タンパク質とインターロイキン１受容体、II型タンパク質の進化に関する研究		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 林 祥剛 副　査 Vice-examiner 松尾雅文 副　査 Vice-examiner 西尾久英		
審査終了日	平成１８年　６月２１日		

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

要旨

インターロイキン 18（Interleukin-18, 以下 IL-18）は炎症をコントロールする重要なサイトカインの１つである。発見当初、IL-18 は INF-γ誘導因子として感染防御や抗アレルギー作用などの働きを持つことが注目されたが、近年、それとは逆に気管支喘息、関節リウマチ、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患の発症に関与することや、動脈硬化症の進行に関与することなどが報告されている。また、インターロイキン 18 結合タンパク質（Interleukin-18 Binding Protein, 以下 IL-18BP）は、IL-18 に結合してその活性を不活化するタンパク質である。これまでに、IL-18BP が IL-18 受容体とは異なったものであることや、ヒトやマウスの産生する IL-18BP は IL-18 に結合してその活性を阻害することなどが報告されている。本研究は、IL-18BP による血中や局所の IL-18 レベルをコントロールする可能性を探るための基礎的な資料を得る目的のもとに行われた。

ヒト IL-18BP アミノ酸配列（gi|10835224）を用いてこの配列と有意な相同性を示すタンパク質、核酸配列をインターネットで公開されている試料とソフトを用いた解析によって収集された。ヒト IL-18BP に有意な相同性を示すタンパク質のアミノ酸配列の比較解析には多重整列を行うプログラム Clustal W が利用された(DDBJ: DNA Data Bank of Japan)。系統樹作成には Clustal W、MEGA version 2.2、NJ 法(neighbor-joining) が利用された。その結果、24 種類のタンパク質がヒト IL-18BP と相同性を示す事を明らかにした。11 種類は脊椎動物由来で、13 種類はウイルス由来のタンパク質であった。脊椎動物由来 IL-18BP、11 種類のうち、ウマ、ウシ、ニワトリ、カエル、サンショウウオ、マス、ナマズ、フグ由来の 8 種類と、ウイルス由来 IL-18BP、13 種類のうち、ウサギポックスウイルス（Rabbitpox virus)、ヤギポックスウイルス（Goatpox virus）由来の 2 種類は、この研究によって新たに IL-18BP ファミリーに加えられたものである。また、ヒト IL-18BP 様タンパク質をコードする 13 種類のウイルスは全てポックスウイルスに属する DNA ウイルスであった。

本研究で得られた 24 種類の脊椎動物およびウイルス由来の IL-18BP について、そのアミノ酸配列を比較整列後 IL-18BP ファミリーの系統樹が作成された。　ヒト、マウス、ラットの IL-18BP 遺伝子はいずれも複数のイントロン、エクソンから構成されているが、これに対してウイルスが持つ IL-18BP 遺伝子はいずれも１つのエクソンで構成されており、イントロンは存在しない。ウイルスはその IL-18BP 遺伝子を宿主であるヒトやマウス、ラットの遺

伝子を取込んで自らの遺伝子にしたと考えられるにも関わらず、ウイルスのIL-18BP遺伝子にはイントロンは存在しない。従って、脊椎動物の遺伝子をウイルスに取込む過程でイントロンが取り除かれたと考えられ、レトロポジションによって脊椎動物の遺伝子がウイルスゲノムに転位したと考えられる。彼らの作成した系統樹から、この様な転位は鳥類から哺乳類が分岐した後で、哺乳類のIL-18BP遺伝子が霊長類、有蹄類、げっ歯類に分岐する以前に独立に２度起こった可能性が示唆された。更に、本研究で作成された系統樹からポックスウイルスが産生するIL-18BPは３種類に分類出来ることが明らかになった。

サンショウウオ、カエル、マス、フグがヒトIL-18BPに良く似たタンパク質を産生することを見出されたが、同時にこれらのタンパク質が脊椎動物の産生するIL-1R2（インターロイキン１受容体、Ⅱ型タンパク質）に似ている事を見出した。この事実は、IL-18BPとIL-1R2が共通の祖先遺伝子に由来する事を示唆することから、この点を明らかにする為にサンショウウオ、カエル、マス、フグのIL-18BPのアミノ酸配列と相同性を示すタンパク質をNCBIデータベースで検索した。その結果、新たに５種類の良く似ているが異なるタンパク質をサンショウウオ、マス、ナマズ（２種）、フグなどで見出した。これらの新たに見出された５種類のタンパク質に、ヒト、サル、ウマ、マウス、ラット由来のIL-1R2、更にヒト、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ニワトリ由来のIL-18BPも加えて系統樹を作成した結果、IL-18BP遺伝子とIL-1R2遺伝子は共通の祖先遺伝子から、おそらく、魚類の時代に分岐した事が推定された。

本研究は、IL-18BPについて、その遺伝子、アミノ酸配列から脊椎動物からウイルスに及ぶ系統樹を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかったIL-18BPファミリーの相互の関係と、IL-18BPとIL-1R2が共通の祖先遺伝子に由来する事を示唆する重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。