

平成10年度 厚生科学研究費補助金

(厚生科学特別研究事業)

総括研究報告書

課題名

アレルギーにおける IgE 受容体発現制御に関する研究

(H10 - 特別 - 033)

主任研究者 山口 正雄

(東京大学)

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
総括研究報告書

アレルギーにおけるIgE受容体発現制御に関する研究

主任研究者 山口 正雄（東京大学）

研究要旨 アレルギー疾患の病態形成に重要な分子である、マスト細胞表面のFcεRI発現の制御について検討した。FcεRI発現亢進にはIL-4よりもIgEが格段に強力であった。また、ステロイド剤dexamethasoneは、in vivo およびin vitroでマスト細胞の表面FcεRI発現を減少させた。本研究により、FcεRI発現抑制がアレルギー疾患の治療アプローチにおいてターゲットとなりうるということが明らかとなった。

A. 研究目的

気管支喘息をはじめとするアレルギー疾患は、世界的に罹患率が増加傾向にあり、病態解明が急務となっている。気管支喘息の過半を占める、原因抗原が判明しているアトピー型においては、IgEとマスト細胞が症状発現に深く関与している。IgEと1対1で結合する高親和性IgE受容体(FcεRI)は、マスト細胞がIgE依存性アレルギー反応を惹起するのに必須な分子であるにも関わらず、その発現の機序に関心が持たれるようになったのはごく最近のことである。近年、IgE 或はIL-4がマスト細胞の表面FcεRI発現量を制御することが明らかになった。さらに、IgE やIL-4による FcεRI 発現増加はマスト細胞の機能をも増強することが報告された。この知見は、IgE 依存性反応に於て、IL-4などを介したIgE 産生→FcεRI発現増加およびFcεRIにより保持されるIgEの増加→抗原刺激時のマスト細胞のメディエーター遊離増強（或は感受性亢進）→反応の増悪（或は発症）および遊離増加したIL-4によるIgEの更なる産生亢進、という、今まで看過されていた増悪ループの存在を示している。このループは、決してself-limitingとはいえない喘息発作の経過ともよく合致している。本研究は、このような増悪ループを引き起こす因子(IgE、IL-4)の各々の作用機序を検討するとともに、増悪ループの途中の段階がアレルギー治療におけるtargetとなりうるかを検討するものである。

本研究では以下の2点を明らかにすることを狙った。(1) マスト細胞の表面FcεRI発現量の増加を引き起こしうる因子として判明した免疫グロブリン (IgE)、サイトカイン (IL-4)

は、まったく異なるカテゴリーの分子であり、そのFcεRI発現増加作用は異なる機序で発揮されると予測される。このような機序の多様性を明らかにする。(2) 前述のアレルギー増悪ループのうちで、近年新たに判明した2段階、すなわちIgEによるFcεRI発現増加および、FcεRI発現の増加したマスト細胞の機能増強が、様々な因子（サイトカインや免疫抑制剤など）によりどのように修飾されうるかを明らかにする。本研究により、増悪しつつあるアレルギー反応（特に、反応を惹起させるIL-4とIgEがすでに存在して、増悪ループに入りつつある状態、たとえば喘息発作を想定）のメカニズムを明らかにするとともに、増悪ループを対象とした新たな治療戦略を開くことが期待された。

B. 研究方法

細胞は、マウスの腹腔マスト細胞(PMC) および骨髓由来培養マスト細胞(BMCMC)を主に用いた。FcεRI発現は、IgEで感作後、FITC-抗IgE抗体を結合させ、flow cytometryを用いて半定量的に測定した。①IgE,IL-4のFcεRI発現増加作用の比較。各種マスト細胞をIgE,IL-4の組み合わせで培養してから表面FcεRI発現を検討する。②FcεRI発現をステロイド剤が制御しうるかを検討する。ステロイド剤がFcεRI発現を減少させる場合には、それがmRNA発現抑制によるのかをRT-PCRで検討する。③ステロイド剤がFcεRI発現を低下させる場合、それがin vivoでも誘導しうる現象であるかをマウスにステロイド剤を投与して検討する。④FcεRI発現量の異なるマスト細胞機能の制御。BMCMCをIgE、IL-4の存在下あるいは非存在下で培養したのちに刺激して、ヒスタミンとサイトカイン遊離を測定す

る。

C. 研究結果

マウスのマスト細胞としてBALB/cおよびC57B6マウスから採取した腹腔マスト細胞を用いて、IgE、IL-4、およびステロイド剤を添加し、細胞表面のFcεRI発現を検討し、次の結果を得た。

IgEは、既に報告したように、マスト細胞のFcεRI発現を増加させるが、IgEの非存在下では腹腔マスト細胞の培養経過中、FcεRI発現は徐々に減少する。それに対し、IL-4は、FcεRI発現に与える影響はIgEに比べて少ない。IL-4単独ではFcεRI発現をほとんど変化させず、IgEとの共存下ではじめてIgE単独と比べてFcεRI発現をやや増加させる程度であった。

一方、ステロイド剤dexamethasoneを添加すると、マウス腹腔マスト細胞のFcεRI発現は抑制される。Dexamethasoneの作用は、時間および濃度依存的である。Dexamethasoneの存在下で1日の培養でFcεRI発現減少は明らかとなり、2日間培養後にはFcεRI発現はほぼ半減する。また、FcεRI発現減少をもたらすdexamethasone濃度は、10 nMあるいはそれ以上の濃度であり、この濃度は、dexamethasoneがアレルギー性炎症細胞である好塩基球の脱顆粒や遊走を抑制する濃度とほぼ一致している。

マウス骨髄由来培養マスト細胞を用いた結果として、dexamethasone 10および100 nMを添加するとFcεRI発現が抑制される。腹腔マスト細胞と比べると、dexamethasoneの作用発現は急速で、16時間培養後に既にFcεRI発現は半減した。

dexamethasoneがin vivoでマスト細胞、好塩基球のFcεRI発現を制御するかを検討した。Dexamethasone 2 mg/体重kg/日を2日間投与し、その翌日腹腔マスト細胞および骨髄好塩基球のFcεRI発現を検討したところ、両細胞ともに、FcεRI発現の減少傾向を認めた。なお、この実験においては、dexamethasoneが細胞への直接作用としてFcεRI発現を減少させる以外に、血液中のIgEやサイトカインの濃度を変化させることで、間接的にFcεRI発現を制御することも想定されるので、直接作用と断定することはできないにしろ、ステロイド投与が短期間にFcεRI発現をin vivoで抑制することが示された。

マウス骨髄由来培養マスト細胞において、dexamethasoneがFcεRI発現を減少させるメカニズムを調べるため、RT-PCRによる検討を現在行っているところである。FcεRI α , β , γ 各鎖のPCRプライマーを既に決定したところであり、純度の高い培養マスト細胞を調整中（細胞の培養に必要なIL-3の調整に手間取ったためまず前々項

の実験を先に施行した）である。

FcεRI発現変化やステロイド処理を行ったマスト細胞の機能を検討する実験は、前項よりもさらに多数の細胞を必要とするので、細胞が調整できた時点で、前項の実験と同時に進行予定である。

D. 考察

マスト細胞表面のFcεRI発現の制御について検討した。FcεRI発現亢進にはIL-4よりもIgEが格段に強力であった。また、ステロイド剤dexamethasoneは、in vivoおよびin vitroでマスト細胞の表面FcεRI発現を減少させた。本研究により、FcεRI発現抑制がアレルギー疾患の治療アプローチにおいてターゲットとなりうることが明らかとなった。

E. 結論

本研究により、マスト細胞のFcεRI発現を制御する因子としてIgEが最も重要であることを確立するとともに、ステロイド剤がマスト細胞のFcεRI発現を抑制するとの知見を得た。これらはアレルギー疾患の病態の理解に重要であるとともに、FcεRI発現がアレルギーの治療のターゲットとなりうることを示すものである。今後ステロイド剤によるFcεRI発現抑制がいかなる機序でもたらされるか、およびFcεRI発現がステロイド剤だけでなくどのような因子または薬剤によって制御調節されうるかを明らかとすることは、アレルギー疾患の治療の新たな戦略の開発のために重要と考えられる。また、ステロイド剤が臨床的にアレルギー治療において有効である機序の1つとしてFcεRI発現に対する抑制作用が関与しうることが推定された。

F. 研究発表

論文および学会発表は現在投稿準備中。

G. 知的所有権の取得状況

特許取得、実用新案登録に該当するものではありません。