

アトピー性皮膚炎モデルを用いた好塩基球の機能解析研究

分担研究者 烏山 一 東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野 教授

研究要旨 アトピー性皮膚炎のマウスモデルである IgE 依存性皮膚慢性アレルギー炎症（IgE-CAI）の責任細胞は好塩基球であるが、好塩基球は皮膚浸潤細胞の 1-2%を占めるに過ぎず、好酸球が浸潤細胞の主体である。そこで本研究では、好酸球欠損 Δ dblGATA マウスを用いて、IgE-CAI における好酸球の役割ならびに好塩基球との相互作用を解析した。 Δ dblGATA マウスでは IgE-CAI 炎症の減弱が認められたが、この炎症減弱はこれまで知られていなかった Δ dblGATA マウスにおける好塩基球の機能異常に起因することが明らかとなった。本研究によって転写因子 GATA-1 が好塩基球の発生・機能に重要な役割を果たしていること、 Δ dblGATA マウスを用いたアトピー病態解析では好酸球だけでなく好塩基球の異常も考慮する必要があることが判明した。

A. 研究目的

私たちのこれまでの研究により、アトピー性皮膚炎のマウスモデルである IgE 依存性皮膚慢性アレルギー炎症（IgE-CAI）の責任細胞が、皮膚浸潤細胞のわずか 1-2%を占めるに過ぎない好塩基球であることが明らかとなった。一方、主たる浸潤細胞のひとつである好酸球の役割ならびに好塩基球との相互作用に関しては不明である。そこで本研究では、好酸球欠損マウスとして広く用いられている Δ dblGATA マウス（転写因子 GATA-1 遺伝子のプロモーターに変異を入れた遺伝子改変マウス）において IgE-CAI を誘発し、好塩基球非存在下における IgE-CAI 炎症ならびに好塩基球動態を解析した。

B. 研究方法

Δ dblGATA マウスを IgE で受動感作した後に耳介皮膚にアレルギーを投与し、耳介腫脹ならびに浸潤細胞を経時的に測定した。 Δ dblGATA マウスから骨髓、脾臓、末梢血を採取し、好塩基球・好塩基球前駆細胞の数を野生型マウスと比較検討した。さらに、骨髓細胞をサイトカイン IL-3 あるいは TSLP とともに培養し、好塩基球の生成能を調べた。次に、 Δ dblGATA 好塩基球と野生型好塩基球を IgE とアレルギーで刺激し、脱顆粒ならびにサイトカイン（IL-4, IL-6）産生を比較し

た。野生型好塩基球に IL-4 遺伝子に対応する siRNA を導入し、サイトカイン産生に対する影響を調べた。（倫理面への配慮）

動物実験はすべて東京医科歯科大学動物実験指針に則り、実験動物委員会の承認を得ておこなった。

C. 研究結果

Δ dblGATA マウスでは、IgE-CAI における耳介腫脹が野生型マウスの 2/3 程度に減弱し、皮膚に浸潤する好塩基球数が正常マウスの 1/3-1/2 と減少していた。その原因を探るため、未処置の Δ dblGATA マウスを解析したところ、好酸球の欠損だけではなく末梢好塩基球ならびに骨髓好塩基球前駆細胞の減少がみとられ、*in vitro* での好塩基球生成も低下していた。さらに、 Δ dblGATA 好塩基球では、IgE とアレルギーの刺激によって誘導される脱顆粒ならびにサイトカイン産生が低下していた。 Δ dblGATA 好塩基球における GATA-1 発現を調べたところ、野生型好塩基球の約 1/4 であった。さらに、野生型好塩基球に IL-4 siRNA を発現させるとサイトカイン産生の低下がみとめられた。

D. 考察

これまでの研究で、転写因子 GATA-1 が赤血球、巨核球、好酸球ならびにマスト細胞の分化・成熟に寄与していることが報告されていたが、好塩基球における

役割は不明であった。本研究により、GATA-1 が好塩基球の生成ならびに活性化に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、 Δ dblGATA マウスでは好塩基球の減少症ならびに機能低下が存在することが判明した。したがって、 Δ dblGATA マウスで認められた表現型を解釈する際には、好酸球だけでなく好塩基球の異常も考慮する必要がある。

E. 結論

好酸球欠損 Δ dblGATA マウスにみとめられた IgE-CAI 炎症の減弱は、好塩基球の異常に起因することが強く示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shiraishi, Y., Jia, Y., Domenico, J., Joetham, A., Karasuyama, H., Takeda, K., and Gelfand, E.W.: Sequential engagement of Fc ϵ RI on mast cells and basophil histamine H4 receptor and Fc ϵ RI in allergic rhinitis. *J. Immunol.* 190: 539-548, 2013.
- 2) Egawa, M., Mukai, K., Yoshikawa, S., Iki, M., Mukaida, N., Kawano, Y., and Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4. *Immunity* 38: 570-580, 2013.
- 3) Ramadan, A., Pham, Van L., Machavoine, F., Dietrich, C., Alkan, M., Karasuyama, H., Schneider, E., Dy, M., Thieblemont, N.: Activation of basophils by the double-stranded RNA poly(A:U) exacerbates allergic inflammation. *Allergy* 68: 732-738, 2013.
- 4) Torrero, M.N., Morris, C.P., Mitre, B.K., Hübner, M.P., Mueller, E., Karasuyama, H., and Mitre, E.: Basophils help establish protective immunity induced by irradiated larval vaccination for filariasis. *Vaccine* 31: 3675-3682, 2013.
- 5) Reber, L.L., Marichal, T., Mukai, K., Roers, A., Hartmann, K., Karasuyama, H., Nadeau, K.C., Tsai, M., and Galli, S.J.: Selective ablation of mast cells or basophils reduces peanut-induced anaphylaxis in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 132: 881-888, 2013.
- 6) Noti, M., Tait Wojno, E.D., Kim, B.S., Siracusa, M.C., Giacomini, P.R., Nair, M.G., Benitez, A.J., Ruymann, K.R., Muir, A.B., Hill, D.A., Chikwava, K.R., Moghaddam, A.E., Sattentau, Q.J., Alex, A., Zhou, C., Yearley, J.H., Menard-Katcher, P., Kubo, M., Obata-Ninomiya, K., Karasuyama, H., Comeau, M.R., Brown-Whitehorn, T., de Waal Malefyt, R., Sleiman, P.M., Hakonarson, H., Cianferoni, A., Falk, G.W., Wang, M-L., Spergel, J.M., and Artis, D.: TSLP-elicited basophil responses can mediate the pathogenesis of eosinophilic esophagitis. *Nat. Med.* 19: 1005-1013, 2013.
- 7) Anyan, W.K., Seki, T., Kumagai, T., Obata-Ninomiya, K., Furushima-Shimogawara, R., Kwansa-Bentum, B., Akao, N., Bosompem, K.M., Boakye, D.A., Wilson, M.D., Karasuyama, H., and Ohta, N.: Basophil depletion downregulates *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation. *Parasitol. Int.* 62: 508-513, 2013.
- 8) Obata-Ninomiya, K., Ishiwata, K., Tsutsui, H., Nei, Y., Yoshikawa, S., Kawano, Y., Minegishi, Y., Ohta, N., Watanabe, N., Kanuka, H., and Karasuyama, H.: The skin is an important bulwark of acquired immunity against intestinal helminths. *J. Exp. Med.* 210: 2583-2595, 2013.
- 9) Nei, Y., Obata-Ninomiya, K., Tsutsui, H., Ishiwata, K., Miyasaka, M., Matsumoto, K., Nakae, S., Kanuka, H., Inase, N., and Karasuyama, H.: GATA-1 regulates the generation and function of basophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110: 18620-18625, 2013.
- 10) Leyva-Castillo, J.M., Hener, P., Michea, P., Karasuyama, H., Chan, S., Soumelis, V., and Li, M.: Skin TSLP initiates Th2 responses through an

- 11) orchestrated immune cascade. *Nat. Commun.* 4:2847, 2013.
- 12) 吉川 宗一郎、烏山 一:「好塩基球とアレルギー」
アレルギー 62(7): 797-804, 2013.
- 13) 壹岐美紗子、烏山 一:「好塩基球による慢性アレルギー炎症の誘導機構」炎症と免疫 21 (6): 78-82, 2013.
- 14) 江川真由美、烏山 一:「好塩基球とマクロファージによるアレルギー炎症の鎮静化」別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患 2 (2): 63-68, 2013

2.学会発表

- 1) Karasuyama, H.: Non-redundant roles of basophils in immunity. EAACI-WAO Congress, Milan, Italy. 2013.06.23.
- 2) 烏山 一: 特別講演「アレルギーならびに生体防御における好塩基球の新たな役割～山椒は小粒でもびりりと辛い」第34回ゲノム創薬フォーラム 東京 2013.07.25.
- 3) Karasuyama, H.: Role of basophils in allergic responses and protective immunity. German-Japan Immunology Seminar. Shizuoka, Japan, 2013.12.08.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし