

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 烏山 一

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 免疫アレルギー学分野 教授

研究要旨

好塩基球はアレルギー病態に関わることが知られているが、どのようなエフェクター分子を使ってアレルギー炎症を引き起こしているのかは、よくわかっていない。セリン・プロテアーゼのひとつである mMCP-8 は、好塩基球のみで発現が認められ、細胞活性化にともなって細胞外に放出される。mMCP-8 のアレルギー炎症における役割を明らかにするために、mMCP-8 リコンビナント蛋白を作製し、マウス皮内投与したところ、好中球を主とした細胞浸潤をともなう皮膚腫脹が観察された。このことから、好塩基球由来 mMCP-8 がアレルギー炎症惹起分子として機能していることが強く示唆され、アレルギー治療の標的となる可能性が考えられた。

A. 研究目的

私たちは、これまでの研究で、マウス・マスト細胞プロテアーゼ・ファミリーに分類されるセリン・プロテアーゼのなかで、mMCP-8 と mMCP-11 がマスト細胞ではなく、好塩基球に選択的に発現していることを見いだした。それぞれの特異抗体を作製して、蛋白発現を解析したところ、いずれも好塩基球の分泌顆粒内に貯蔵されており、活性化した好塩基球の脱顆粒の際に、細胞外に放出されることが判明した。リコンビナント mMCP-11 を作製し、マウス皮内に投与したところ、血管透過性亢進と細胞浸潤を伴う皮膚腫脹が誘導された。このことから、mMCP-11 が好塩基球に依って誘導される皮膚アレルギー炎症のエフェクター分子として機能していることが示唆された。一方、mMCP-8 は構造的には Granzyme B に類似しており、トリプターゼ活性を有する mMCP-11 とは異なった機能を有する可能性が考えられる。そこで今回、好塩基球由来 mMCP-8 のアレルギー炎症における役割を明らかにすることを目的に研究を進めた。

B. 研究方法

好塩基球からクローニングした mMCP-8 cDNA を発現ベクターに組み込んで昆虫細胞に発現させて、リコンビナント蛋白を精製した。それをマウス耳介皮内

に投与し、皮膚の腫脹、血管透過性亢進、細胞浸潤などを解析した。

（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. 結果

mMCP-8 を皮内投与した予備実験では、明確な血管透過性亢進は認められなかったが、好中球を主とした細胞浸潤をともなう皮膚腫脹が観察された。

D. 考察

さらなる繰り返しの実験が必要であるが、予備実験結果からみて、mMCP-8 も好塩基球の炎症惹起分子として機能している可能性が考えられた。mMCP-11 投与の場合と比べて、血管透過性亢進作用が弱いことや浸潤細胞の種類が異なることから、mMCP-8 と mMCP-11 では標的細胞・分子が異なる可能性がある。

E. 結論

好塩基球に特異的に発現し、脱顆粒にともなって細胞外に放出される mMCP-8 が、好塩基球によるアレルギー炎症の誘導に関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報
該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Bakocevic, N., Claser, C., Yoshikawa, S., Jones, LA., Chew, S., Goh, CC., Malleret, B., Larbi, A., Ginhoux, F., de Lafaille, MC., Karasuyama, H., Renia, L., Ng, LG.: CD41 is a reliable identification and activation marker for murine basophils in the steady-state and during helminth and malarial infections. *Eur. J. Immunol.* 44: 1823-1834, 2014.
2. Morshed, M., Hlushchuk, R., Simon, D., Walls, A.F., Obata-Ninomiya, K., Karasuyama, H., Djonov, V., Eggel, A., Kaufmann, T., Simon, H-U, and Yousefi, S.: NADPH oxidase-independent formation of extracellular DNA traps by basophils. *J. Immunol.* 192: 5314-5323, 2014.
3. Reber, L., Marichal, T., Sokolove, J., Starkl, P., Gaudenzio, N., Iwakura, Y., Karasuyama, H., Schwartz, L.B., Robinson, W.H., Tsai, M., and Galli, S.J.: Mast cell-derived IL-1 β contributes to uric acid crystal-induced acute arthritis in mice. *Arthritis Rheum.* 66: 2881-2891, 2014..
4. Karasuyama, H., and Yamanishi, Y.: Basophils have emerged as a key player in immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 31: 1-7, 2014.
5. Tsai, S.H., Kinoshita, M., Kusu, T., Kayama, H., Okumura, R., Ikeda, K., Shimada Y., Takeda A., Yoshikawa, S., Obata-Ninomiya, K., Kurashima, Y., Sato, S., Umemoto, E., Kiyono, H., Karasuyama, H., and Takeda, K.: The ectoenzyme E-NPP3 negatively regulates ATP-dependent chronic allergic responses by basophils and mast cells. *Immunity* 42: 279-293, 2015.
6. 烏山 一: 炎症の抑制・終焉機構「序」 炎症と免疫 22 (2): 71, 2014
7. 二宮(小畑)一茂, 筒井英充, 烏山 一: 消化管寄生虫感染防御免疫応答における好塩基球の新

- たな役割 感染・炎症・免疫 44(1): 30-39, 2014
8. 烏山 一: 好塩基球の光と影「はじめに」 医学のあゆみ 250(12): 1079, 2014
 9. 太田卓哉, 吉川宗一郎, 烏山 一: マダニ感染防御と好塩基球 医学のあゆみ 250(12): 1114-1118, 2014
 10. 三宅健介, 烏山 一: 最近明らかになってきた好塩基球の役割 臨床免疫・アレルギー科 63 (2): 164-169, 2015
2. 学会発表
1. Karasuyama, H.: Non-redundant roles of basophils in immunity-a neglected minority gains new respect. The 24th Congress of Interasma Japan/North Asia. Nagoya, 2014.07.19.
 2. Karasuyama, H.: Basophils have emerged as a key player in immunity. Cold Spring Harbor Asia Conference “Frontiers of Immunology in Health & Diseases” Suzhou, China, 2014.09.04
 3. Karasuyama, H.: Basophils have emerged as a key player in immunity. 第24回九州大学生体防御医学研究所国際シンポジウム 福岡 2014.11.08
 4. Karasuyama, H.: Emerging roles of basophils in allergy and protective immunity. Medical Research Institute 40th Anniversary Symposium. Tokyo 2014.11.28
 5. Karasuyama, H.: Non-redundant roles for basophils in allergy and protective immunity. British Society for Immunology Congress 2014. Briton, UK, 2014.11.02
 6. Karasuyama, H.: Non-redundant roles of basophils in Th2-type protective immunity and allergy. Cell Symposium “The multifaceted roles of type 2 immunity” Bruges, Belgium 2014.12.11.

7. 烏山 一：教育講演「アレルギーに関連する新規の免疫細胞～ILC2 細胞と好塩基球を中心として～」第 26 回アレルギー学会春季臨床大会 京都 2014.05.10
8. 烏山 一：アレルギーならびに生体防御における好塩基球の役割 第 79 回インターフェロン・サイトカイン学会 札幌 2014.06.19
9. 烏山 一：アレルギー疾患ならびに生体防御における好塩基球の新たな役割 第 41 回本郷呼吸器研究会 東京 2014.06.24
10. 烏山 一：教育講演「アレルギー発症における好塩基球の役割とその制御」第 42 回日本臨床免疫学会 東京 2014.09.25
11. 烏山 一：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 日本眼科アレルギー研究会 東京 2014.10.04
12. 烏山 一：生体内での好塩基球の役割解明とアレルギー治療への応用 CREST「免疫機構」第三回公開シンポジウム 東京 2014.10.08
13. 烏山 一：アレルギー発症における好塩基球の役割とその制御 第 74 回臨床アレルギー研究会 東京 2014.11.01
14. 烏山 一：好塩基球研究のめざましい進展～日陰者がいっきに檜舞台に躍り出た！ 第 78 回日本皮膚科学会東京支部学術大会 東京 2015.02.21

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

無し。