

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461505

研究課題名(和文) Fc RI会合の競合的阻害によるマスト細胞の活性化制御

研究課題名(英文) Regulation of mast cell activation by competitive inhibition of FcεRI assembly

研究代表者

布村 聡 (Nunomura, Satoshi)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：70424728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高親和性IgE受容体(FcεRI)が鎖のホモダイマーであることに着目し、鎖のホモダイマー化に重要なSS結合の役割について解析を行いました。鎖のCys7に変異を導入し、ホモダイマー間のSS結合が形成されないマスト細胞では、1)抗原刺激に強さに依存した正と負のマスト細胞活性化調節機構に影響がでること、2)FcεRI複合体の安定性が低下することを初めて明らかにしました。

研究成果の概要(英文)：Previous studies have shown that disulfide-linked homodimerization of FcεR-chains is important for mast cell activation via the FcεRI complex. However, the biological significances of the disulfide-linked FcεR dimerization in the FcεRI-mediated mast cell activation are largely unknown. In this study, we revealed for the first time that, in murine mast cell, FcεR dimerization through the Cys7 residue is a crucial process for controlling degranulation and cytokine production, depending on the strength of FcεRI stimulation. In addition, we showed that the FcεR dimerization enhances the stability of FcεRI complex in the presence of strong detergents. Our findings of the present study could deepen our understanding of mast cells activation process.

研究分野：アレルギー学

キーワード：マスト細胞 高親和性IgE受容体 SS結合

## 1. 研究開始当初の背景

高親和性 IgE 受容体 (Fc<sub>ε</sub>RI) を介したマスト細胞の活性化は、花粉症や気管支喘息などの I 型アレルギーの発症につながります。今日の先進国におけるアレルギー疾患の罹患率は、著しく増加しています。そのため、マスト細胞の活性化をコントロールする技術開発の社会的、学術的意義はきわめて大きいものであります。

Fc<sub>ε</sub>RI は、IgE と特異的に結合する 1 個の α 鎖、シグナル伝達に関与する 1 個の β 鎖および S-S 結合により 2 量体を形成する γ 鎖から構築されること、即ち 4 量体構造をとる Multimeric 受容体 (αβγ<sub>2</sub> 型) であることが明らかにされています。これらの各受容体サブユニットは小胞体内において会合した後に、細胞膜表面に発現する仕組みになっています。そして実際に酸化型コレステロールなどにより、Fc<sub>ε</sub>RI の会合が阻害されると、Fc<sub>ε</sub>RI の発現低下に伴って、Fc<sub>ε</sub>RI を介したマスト細胞の活性化は顕著に低下します。そこで、マスト細胞の活性化における Fc<sub>ε</sub>RI 会合の重要性を明らかにするために、FcRγ 鎖に着目しました。

## 2. 研究の目的

本研究では、2 量体を形成しない FcRγ 鎖によって構築された Fc<sub>ε</sub>RI (αβγ 型) のマスト細胞上での発現レベルおよび細胞内における Fc<sub>ε</sub>RI 会合の安定性について、αβγ<sub>2</sub> 型 Fc<sub>ε</sub>RI と比較しながら、解析を行い、Fc<sub>ε</sub>RI を介したマスト細胞活性化における FcRγ 鎖 2 量体化の重要性を明らかにすることを目的としています。さらに、FcRγ 鎖 2 量体形成を標的とした競合阻害実験により、Fc<sub>ε</sub>RI の機能を制御する新たな手法を開発し、I 型アレルギー疾患に対する予防戦略の新展開を目指しました。

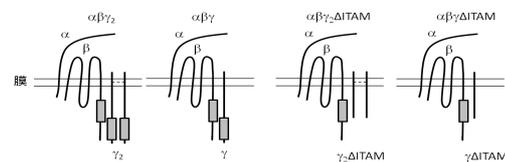
## 3. 研究の方法

Fc<sub>ε</sub>RI (αβγ 型) のマスト細胞上での発現レベルおよび細胞内における Fc<sub>ε</sub>RI 会合について αβγ<sub>2</sub> 型 Fc<sub>ε</sub>RI と比較しながら、解析を行いました。

Fc<sub>ε</sub>RI を介したマスト細胞活性化における FcRγ 鎖 2 量体化の重要性について解析を行いました。

と 同様の実験を、さらに ITAM 領域を欠失させた αβγ<sub>2</sub> ITAM 型および αβγ ITAM 型の Fc<sub>ε</sub>RI を構築させたマスト細胞を用いて行ないました。

および の実験結果から、Fc<sub>ε</sub>RI 会合は保持しながら、Fc<sub>ε</sub>RI を介したマスト細胞の活性化が減弱する Fc<sub>ε</sub>RI のタイプ (下図参照) を選定しました。



上記の選定条件に適合した FcRγ 鎖は、細胞内に導入されることで、αβγ<sub>2</sub> 型の αβγ<sub>2</sub> 型 Fc<sub>ε</sub>RI の会合を競合的に阻害できる可能性を持つため、選定した FcRγ 鎖を遺伝子導入することにより、αβγ<sub>2</sub> 型の Fc<sub>ε</sub>RI の機能を競合阻害できるのか否かについて検討を行いました。

## 4. 研究成果

### 1)

Fc<sub>ε</sub>RI 発現について解析した結果 3 種類の鎖変異体の中で、野生型とほぼ同等の Fc<sub>ε</sub>RI 発現能を有していたのは、SS 結合部位にのみ変異を導入したもので認められました (図 1)。また ITAM 部分を欠く変異体はどちらも若干 Fc<sub>ε</sub>RI 発現が低下することが明らかとなりました。

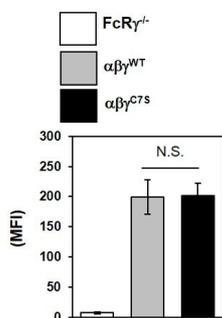


図 1. FcεRI 発現解析

2 )

次に、FcεRI 複合体の安定性について界面活性剤を用いて検討しました。FcRγ鎖に SS 結合部位に変異を導入し、ホモダイマー化が形成できないマスト細胞では、1% Triton-X100 などの強い界面活性剤の存在下では、FcεRI 複合体の安定性が顕著に低下していました (図 2)。

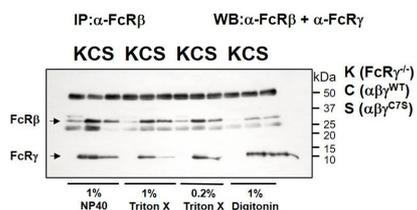


図 2. FcεRI 安定性についての評価

3 )

FcεRI を介したマスト細胞の活性化における各変異体の影響を解析した結果、ITAM 部分を欠く変異体では FcεRI を介した脱顆粒およびサイトカイン産生がほぼ完全に消失するのに対して、SS 結合部位にのみ変異を導入した変異体では、Fc RI 架橋の強さに応じたマスト細胞の脱顆粒応答やサイトカイン産生の正と負の制御機構に関与していることが明らかとなりました。すなわち、鎖の SS 結合が形成できないマスト細胞では、低濃度の抗原刺激時に脱顆粒応答が減弱し、高濃度の抗原刺激時には脱顆粒応答が亢進する現象が観察されました (図 3)。

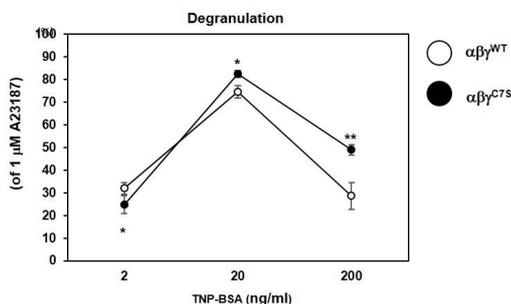


図 3 . 脱顆粒応答における 鎖による活性化調節

4 )

SS 結合部位に変異を導入した ITAM 変異体を、αβγ<sub>2</sub>型 FcεRI を発現している野生型のマスト細胞に過剰発現させた結果、野生型 鎖に競合し、脱顆粒応答が 30 ~ 40% 低下させる効果が認められました。

以上の結果から、Fc RI 鎖の SS 結合は Fc RI を介したマスト細胞の活性化調節に関わっており、マスト細胞活性化制御法の新たな分子標的となる可能性が示唆されました。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1. 布村聡: 接触性皮膚炎における Fc 受容体鎖の役割: 化学と生物, 査読有 53 巻 10 号:657-658, 2015
2. Nunomura S, Ra C, Terui T, Okayama Y: Disulfide-linked dimerization of the FcRγ-chain is required for positive and negative regulation of mast cell activation via FcεRI.: Allergology International, 査読有 In press

[学会発表](計 1 件)

1. 布村聡, 羅智靖, 照井正, 岡山吉道: FcεRI を介したマスト細胞活性化における FcRγ鎖 S-S 結合の役割: アレルギー・好酸球研究会 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

布村 聡 (NUNOMURA SATOSHI)

佐賀大学医学部・助教

研究者番号：70424728

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )