

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04864

研究課題名(和文) アレルギー性疾患において個々の免疫細胞の概日時計が果たす役割の解明

研究課題名(英文) Circadian regulation of allergic reactions by immune cell-clocks

研究代表者

中尾 篤人 (NAKAO, Atsuhito)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：80317445

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、樹状細胞で選択的に時計遺伝子Bmal1が障害されたマウスをCre-loxpシステムを作成した。樹状細胞選択的にBmal1が障害されたマウスにダニ抗原を吸入することによる喘息モデルを誘導するとコントロールマウスと比較して、それらの反応が減弱した。このときダニ抗原に対する抗体産生の減弱がみられ、T細胞のダニ抗原に対するサイトカイン産生も減弱していることから、感作過程の障害が示唆された。またリンパ節への樹状細胞の遊走過程に障害があることが予備的検討から見出されている。したがって、樹状細胞のBmal1は抗原に対する免疫応答の誘導に重要であることが示唆された。今後このメカニズムを追求する。

研究成果の概要(英文)：We have established dendritic cell-selective Bmal1-deficient mice (DC-Bmal1-deficient mice) in this study. Upon introduction of Derf1, a major mite allergen,-induced asthma model, DC-Bmal1-deficient mice showed reduced airway inflammation associated with suppression of Derf1-specific IgE antibody and T cell responses. Preliminary studies showed that migration of dendritic cells into the regional lymph nodes were suppressed in DC-Bmal1-deficient mice. These findings suggest that deficiency of Bmal1 in dendritic cells suppresses sensitization to Derf1 by inhibition migration of DC to lymph nodes. We are under investigation how the suppression of DC migration occurs in DC-Bmal1-deficient mice.

研究分野：アレルギー

キーワード：アレルギー 概日時計 免疫細胞

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者らはマスト細胞の「概日時計」(時計遺伝子)がマスト細胞のIgEによる活性化を時間依存的に調節していることを明らかにした。しかしながら様々なアレルギー性疾患における個々の免疫細胞の概日時計の役割は未解明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、樹状細胞、T細胞、B細胞、マスト細胞の各々で選択的に概日時計(時計遺伝子)が障害されたマウスを作成し、これらのマウスに喘息、花粉症、食物アレルギーモデルを導入し正常マウスと比較することでそれぞれのアレルギー性疾患の病態形成において個々の免疫細胞の概日時計が果たす役割を解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

Cre-loxpシステムやマスト細胞欠損マウスを用いて樹状細胞、T細胞、B細胞、マスト細胞の各々で選択的に概日時計(時計遺伝子)が障害されたマウスを作成する。その後、これらのマウスに喘息、花粉症、食物アレルギーモデルを導入し正常マウスと比較する。

### 4. 研究成果

平成27 - 29年度にかけて樹状細胞、T細胞、マスト細胞の各々で選択的に時計遺伝子Clock又はBmal1が障害されたマウスCre-loxpシステムやマスト細胞欠損マウスを用いて作成した。

特に、樹状細胞選択的にBmal1が障害されたマウスが多くの匹数を得られたので実験に用いた。これらのマウスにダニ抗原を吸入することによる喘息モデルを誘導するとコントロールマウスと比較して、それらの反応が減弱することを見出した。このときダニ抗原に対する抗体産生の減弱がみられ、T細胞のダニ抗原に対するサイトカイン産生も減弱していた。よって感作過程が障害されていることが示唆された。リンパ節への樹状細胞の遊走過程に

障害があることが予備的検討から見出されている。したがって、樹状細胞のBmal1は抗原に対する免疫応答の誘導に重要であることが示唆された。今後、このメカニズムを追求するとともに、他のマウスにおいても様々なアレルギー性疾患モデルを誘導して個々の免疫細胞の概日時計の役割について解明する。

### 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13件)

- 1 Thu Le HP, Nakamura Y, Oh-oka K, Ishimaru K, Nakajima S, Nakao A: The frequency of Th17 cells in the small intestine exhibits a day-night variation dependent on circadian clock activity. *Biochem Biophys Res Commun* 490(2)290-295, 2017
- 2 Ihara T, Mitsui T, Kira S, Miyamoto T, Sawada N, Nakagomi H, Yoshiyama M, Takeda M, Nakamura Y, Nakao A, Shinozaki Y, Koizumi S: The Clock mutant mouse is a novel experimental model for nocturia and nocturnal polyuria. *Neurourology and Urodynamics* 36(4)1034-1038, 2017
- 3 Oh-oka K, Kojima Y, Uchida K, Yoda M, Ishimaru K, Nakajima S, Hemmi J, Kano H, Fujii-Kuriyama Y, Katoh R, Ito H, Nakao A: Induction of colonic regulatory T cells by 5-aminosalicylic acid (5-ASA) by activating the aryl hydrocarbon receptor. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 4(1)135-151, 2017
- 4 Kawauchi T, Ishimaru K, Nakamura Y, Nakano N, Hara M, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A: Clock-dependent temporal

- regulation of IL-33/ST2-mediated mast cell response. Allergology International 66(3)472-478, 2017 (\*These authors contributed equally to this work.)
- 5 Nakamura Y, Ishimaru K, Shibata S, Nakao A: Regulation of plasma histamine levels by the mast cell clock and its modulation by stress. Scientific Reports 7 Article number:39934, 2017
- 6 Ihara T, Mitsui T, Nakamura Y, Kira S, Nakagomi H, Sawada N, Hirayama Y, Shibata K, Shigetomi E, Shinozaki Y, Yoshiyama M, Andersson KE, Nakao A, Takeda M, Koizumi S: Clock Genes Regulate the Circadian Expression of Piezo1, TRPV4, Connexin26, and VNUT in an Ex Vivo Mouse Bladder Mucosa. PLoS One 12(1):e0168234, 2017
- 7 Igarashi S, Suzuki K, Nakamura Y, Ishimaru K, Fukano C, Masuyama K, Ohashi-Doi K, Nakao A: The efficacy of sublingual immunotherapy for allergic rhinitis may vary with the time of day. Int Arch Allergy Immunol 171(2)111-118, 2016
- 8 Nakamura Y, Nakano N, Ishimaru K, Ando N, Katoh R, Suzuki-Inoue K, Koyanagki S, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A: Inhibition of IgE-mediated allergic reaction by pharmacologically targeting the circadian clock. J Allergy Clin Immunol 137(4)1226-1235, 2016
- 9 Tanabe K, Kitagawa E, Wada M, Haraguchi A, Orihara K, Tahara Y, Nakao A, and Shibata S: Antigen exposure in the late light period induces severe symptoms of food allergy in an OVA-allergic mouse model. Scientific Reports 5 Article number:14424, 2015
- 10 Ando N, Nakamura Y, Aoki R, Ishimaru K, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Shimada S, Nakao A: Circadian Gene Clock Regulates Psoriasis-like Skin Inflammation in Mice. Journal of Investigative Dermatology 135:3001-3008, 2015
- 11 Nakao A: IL-7:AhR We Ready for a New Cytokine to Fight Colitis? [Editorial] Dig Dis Sci 60(7)1876-1877, 2015
- 12 Nakao A, Nakamura Y, and Shibata S: The Circadian Clock Functions As A Potent Regulator of Allergic Reaction. [Review] Allergy 70(5)467-473, 2015
- 13 Ando N, Nakamura Y, Ishimaru K, Ogawa H, Okumura K, Shimada S, and Nakao A: Allergen-specific basophil reactivity exhibits daily variations in seasonal allergic rhinitis. Allergy 70(3)319-322, 2015
- 〔学会発表〕(計 0 件)
- 〔図書〕(計 1 件)
1. 中尾篤人(監訳): 『アバス-リックマン-ピレ 分子細胞免疫学 原著第9版』エルゼビア・ジャパン株式会社 2018 [原著者: Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai 原著書名: Cellular and Molecular Immunology, Ninth Edition]
- 〔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

中尾 篤人 (NAKAO, Atsuhito)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：80317445

##### (2)研究分担者 なし

##### (3)連携研究者 なし

##### (4)研究協力者

中村勇規 (NAKAMURA, Yuki)

石丸かよ子 (ISHIMARU, Kayoko)