

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成29年3月10日現在

これまで見逃されていた好塩基球の存在意義と病態形成に
おける役割

Previously-unappreciated roles for basophils
in health and disease

課題番号：15H05786

烏山 一 (KARASUYAMA HAJIME)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授



研究の概要

好塩基球は130年以上も前に同定された血球細胞であるが、数が極端に少ないこともあり解析が思うように進まず、生体内での役割は長い間謎であった。本研究では、新規解析ツールを駆使して好塩基球の動態、活性化、エフェクター機能に関わる分子機構を明らかにし、これまで見逃されていた好塩基球の存在意義と病態形成における役割の解明をめざす。

研究分野：実験病理学、免疫学

キーワード：炎症、アレルギー・免疫関連疾患、感染免疫、疾患モデル動物

1. 研究開始当初の背景

好塩基球は、数が極端に少ない上に末梢組織常在のマスト細胞と類似の特徴を有するため、血中循環型のマスト細胞亜系などと誤解され、生体内での存在意義が長い間疑問視されていた。最近、私たちは、好塩基球がマスト細胞とは異なる固有かつ重要な役割を果たしていることを明らかにしたが、好塩基球がいったいどのような分子メカニズムによって生体反応に寄与しているのかに関しては、まだよくわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、私たちが独自に開発した新規解析ツールを駆使して、生理的条件下ならびに疾患病態における好塩基球の動態、活性化、エフェクター機能に関わる分子機構を明らかにし、好塩基球の存在意義と病態形成における役割の解明をめざす。それに基づき好塩基球ならびにその産物を標的とした炎症性疾患や感染症の人為的制御の可能性を探求する。

3. 研究の方法

1) 好塩基球による炎症惹起ならびに炎症制御に関わる機構、とくに好塩基球由来のエフェクター分子の同定と作用機序を明らかにする。2) 好塩基球による寄生虫感染症に対する生体防御に関わる好塩基球由来分子の働きを明らかにする。3) 好塩基球の遊走・組織浸潤に関わる分子機構を明らかにする。4) 好塩基球の活性化のメカニズムを明らかにする。

4. これまでの成果

(1) 好塩基球に選択的に発現するトリプターゼ mMCP-11 がアレルギー炎症を引き起こすエフェクター分子であることが判明した【Iki et al. *Blood*, 2016】(新聞報道有り)
私たちは以前、マウス・マスト細胞プロテアーゼ 11 (mMCP-11) が名前とは裏腹にマスト細胞ではなくむしろ好塩基球の分泌顆粒内に強く発現していることを見だし、mMCP-11 が好塩基球固有の機能分子である可能性を示唆した。そこで mMCP-11 欠損マウスを樹立、解析したところ、mMCP-11 が無くても好塩基球は正常に分化・成熟し、細胞活性化や細胞遊走にも異常が認められなかったが、IgE 依存性慢性アレルギー炎症 (IgE-CAI) を誘導したところ、皮膚の腫脹、血管透過性の亢進、炎症性細胞の浸潤いずれも正常マウスに比べ半減した。一方、リコンビナント mMCP-11 を正常マウスの皮内に投与するとアレルギー炎症所見が観察された。遊走試験結果から、mMCP-11 は血中・組織中の蛋白質に作用し、その分解産物が G 蛋白質共役受容体を介して、好塩基球・好酸球・単球を含む白血球の遊走を誘発することが強く示唆された。本研究は、好塩基球由来のプロテアーゼの働きを明らかにした最初の報告である。

(2) 好塩基球特異的に発現するグランザイム B 様蛋白質 mMCP-8 もアレルギー炎症反応を誘導することが判明した【Tsutsui et al. *JBC*, 2017】
mMCP ファミリーの中で mMCP-8 遺伝子

は好塩基球特異的に発現する唯一の遺伝子であるため、好塩基球のマーカーとして多用されているが、mMCP-8 蛋白質自体の性状に関しては未知のままであった。そこで本研究においてリコンビナント mMCP-8 蛋白質を作製、解析したところ mMCP-8 が蛋白分解酵素として機能することが初めて明らかとなった。mMCP-8 をマウスに皮内注射したところ、皮膚の腫脹、血管透過性の亢進、好中球を主とする炎症性細胞の浸潤が誘導され、mMCP-8 も mMCP-11 同様に炎症惹起に寄与するエフェクター分子のひとつであることが強く示唆された。ただし、mMCP-8 の作用機序は mMCP-11 とは異なり、線維芽細胞など皮膚組織中の細胞に作用してケモカインの産生を促進することで白血球遊走を引き起こすことが判明した。以上のことより、好塩基球プロテアーゼ mMCP-8 と mMCP-11 が IgE-CAI 型アレルギー炎症の治療標的になる可能性が示唆された

(3) 好塩基球はトロゴサイトーシスにより樹状細胞から MHC クラス II 分子を受け取ることで抗原提示能を獲得するとともに IL-4 を産生し、アレルギー反応に深く関わる Th2 細胞の分化誘導を促進することが判明した

【Miyake et al. *PNAS*, 2017】(新聞報道有り)

アレルギー反応に深く関わる Th2 細胞の分化誘導に必要な抗原提示とサイトカイン IL-4 を供給する役目を担うのがどの細胞なのかに関しては相反する実験結果が発表され、免疫学の分野において大きな論争的になっていた。なかでも、Th2 細胞の分化誘導に関わる抗原提示細胞が従来から言われている樹状細胞なのか、それとも新たに提唱された好塩基球であるのかが大問題であった。抗原提示細胞として機能するには MHC クラス II (MHC-II) 分子の細胞表面への発現が必須であるが、好塩基球が MHC-II を発現するという報告と発現しないという報告があり、真偽の程は不明のままとなっていた。本研究において多角的に再検討したところ、好塩基球自体には MHC-II 産生能は無いが、トロゴサイトーシスと呼ばれるメカニズムにより MHC-II 分子を樹状細胞から獲得し、自らが産生する IL-4 と共刺激分子 (CD86) とともに、ナイーブ T 細胞に活性化シグナルを送り、Th2 細胞への分化を誘導できることが明らかとなった。これにより、これまでの報告で認められた矛盾点・不一致点の説明ができるようになり、論争に終止符が打たれるとともに、アレルギー応答における好塩基球の重要性がさらに明確となった。

5. 今後の計画

これまで解析した好塩基球由来プロテアーゼやサイトカインに加えて、好塩基球由来

の脂質メディエーターの性状・機能解析もおこない、好塩基球による炎症惹起機構ならびに好塩基球活性化機構を明らかにする。また、好塩基球を介する炎症抑制についても、それに関わる分子の同定と性状解析を進める。本研究で作製した好塩基球プロテアーゼ欠損マウスなどを活用して、寄生虫感染症を含む種々の免疫関連疾患における好塩基球ならびにその産物の役割を明らかにし、臨床応用への可能性を探索していく予定である。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Miyake K, Shiozawa N, Nagao T, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Karasuyama H: Trogocytosis of peptide-MHC class II complexes from dendritic cells confers antigen-presenting ability on basophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 114: 1111-1116, 2017.
2. Tsutsui H, Yamanishi Y, Ohtsuka H, Sato S, Yoshikawa S, Karasuyama H: Basophil-specific protease mMCP-8 provokes an inflammatory response in the skin with microvascular hyperpermeability and leukocyte infiltration. *J. Biol. Chem.* 292: 1061-1067, 2017.
3. Iki M, Tanaka K, Deki H, Fujimaki M, Sato S, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Karasuyama H: Basophil tryptase mMCP-11 plays a crucial role in IgE-mediated, delayed-onset allergic inflammation in mice. *Blood* 128: 2909-2918, 2016.
4. Venturelli N, Lexmond WS, Ohsaki A, Nurko S, Karasuyama H, Fiebiger E, Oyoshi MK: Allergic skin sensitization promotes eosinophilic esophagitis via the interleukin-33-basophil axis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 138: 1367-1380, 2016.
5. Horiguchi K, Yoshikawa S, Saito A, Haddad S, Ohta T, Miyake K, Yamanishi Y, Karasuyama H: Real-time imaging of mast cell degranulation in vitro and in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 479: 517-522, 2016.
6. Yamanishi Y, Karasuyama H: Basophil-derived IL-4 plays versatile roles in immunity. *Semin. Immunopathol.* 38: 615-622, 2016.

ホームページ等

<http://immune-regulation.org>