

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19573

研究課題名(和文)概日時計がアナフィラキシーショックを調節するメカニズムの解析とその応用

研究課題名(英文)The circadian clock controls systemic anaphylactic reaction by regulating the high-affinity IgE receptor expressed on mast cells

研究代表者

石丸 かよ子 (ISHIMARU, Kayoko)

山梨大学・総合研究部・助教

研究者番号：10710353

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは生物の約24時間周期性(概日性)の生理活動リズム(睡眠・覚醒、ホルモン分泌等)を司る「概日時計」(時計遺伝子)がアナフィラキシーショックの強さを時間依存的に調節していることを見出した。本研究ではそのメカニズムの解明を目指した。その結果、マスト細胞の高親和性IgE受容体(FcRI)の発現が概日時計に依存して休息期に高く活動期に低い発現変動を示し、この発現を調節する転写因子PU.1の発現も同様の時間依存性を示すことが明らかになった。これらの結果からアナフィラキシーショックの新しい制御機構が見出された。

研究成果の概要(英文)：Anaphylaxis is a severe systemic allergic reaction which is rapid in onset and potentially fatal, caused by excessive release of mediators including histamine from mast cells upon allergen/IgE stimulation. Increased prevalence of anaphylaxis in industrialized countries requires urgent needs for better understanding of anaphylaxis. However, the pathophysiology of the disease is not fully understood.

This study showed that expressions of high-affinity IgE receptor(FcRI) and PU.1, a major transcription factor regulating FcRI transcription, exhibited circadian rhythms in mast cells, depending on the mast cell-intrinsic circadian clock activity. The results suggest that the circadian clock activity controls IgE-mediated systemic anaphylactic reaction by regulating FcRI expression on mast cells.

研究分野：アレルギー学

キーワード：概日時計 マスト細胞 アナフィラキシーショック

1. 研究開始当初の背景

アナフィラキシーショックは食物やハチ、薬物などに対するアレルギーをもつ患者が、それらのアレルゲンに高度に暴露されたときに、ヒスタミン等の化学物質がマスト細胞から過剰放出されることによって血圧が低下し、生命が脅かされる状態である。特に小児においては学校給食における食物アレルギー性のアナフィラキシーショックの発症が社会的にも極めて問題となっている。このようにアナフィラキシーショックはアレルギー性疾患における最重症の病態の1つであるにもかかわらず、その制御機構についての理解はこの数十年間ほとんど進歩していない。

研究代表者らは、生物の約24時間周期性(概日性)の生理活動リズム(睡眠・覚醒、ホルモン分泌等)を司る「概日時計」がアナフィラキシーショックの強さを時間依存的に調節していることを見出し、アナフィラキシーショックの新しい制御機構を提唱した(Journal of Allergy Clinical Immunol 2011, 2014, 2016, Journal of Immunol Res 2014, Allergy 2015)。特に休息期にはアナフィラキシーショックの強さが活動期に比べて有意に増強することが明らかになった。しかしながら概日時計は体内のほぼすべての細胞に存在し、どの細胞の概日時計がアナフィラキシーショックの時間依存的調節に重要であるのか、またその分子機構は何かについては未だ明らかではない。これらの疑問が解明されると、例えば活動期にアナフィラキシーショックが抑制される(あるいは休息期には増強される)分子メカニズムが解明されればアナフィラキシーショックの予防・治療法について新しい示唆が得られることが期待される。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて、本研究では概日時計がアナフィラキシーショックを調節する詳細なメカニズムを解明することを目的とした。

さらに概日時計によるアナフィラキシーショックの時間依存的な制御機構を解明することにより、その新知見をアナフィラキシーショックの予防・治療へと応用することを目指し、概日時計に影響する化合物(薬剤)でアナフィラキシーショックの強さを軽減するものについてスクリーニングした。

3. 研究の方法

(1) マスト細胞選択的にClock遺伝子が変異したマウスとそのコントロールマウスを作成し、それぞれにアナフィラキシーショックモデルであるPSA(passive systemic anaphylactic)反応を1日のうちの様々な時間帯に誘導し、体温低下、血圧低下、血中ヒスタミン濃度、血中CCL2(MCP-1)濃度について比較検討した。

(2) マスト細胞選択的にClock遺伝子が変異したマウスとそのコントロールマウスから腹腔内マスト細胞を経時的に単離し、その高親和性IgE受容体(FcRI)の発現と転写因子PU.1の発現を検討した。さらにこの単離した腹腔内マスト細胞をFcRI鎖に対する抗体で刺激して活性化させヒスタミン濃度を測定した。

(3) 概日時計の位相を変化させる薬剤であるカゼインキナーゼ1(CK1)阻害薬によってマスト細胞概日時計の時間の位相を変えて、マウスにアナフィラキシーショックモデルを誘導し、その強さに与える影響についてコントロールマウス(vehicle投与マウス)と比

較検討した。

(4) 近年、IL-33 が IgE によるマスト細胞の脱顆粒反応 (I 型アレルギー反応) を増強すること、さらにこの機序もアナフィラキシーショックの病態に関与することが示唆されている。そこでマスト細胞選択的に Clock 遺伝子の変異したマウスとそのコントロールマウスから上述のように腹腔内マスト細胞を経時的に単離しその IL-33 受容体 (ST2) の発現と IL-33 への反応性についても検討した。

4. 研究成果

(1) マスト細胞選択的に Clock 遺伝子の変異したマウスではコントロールマウスで見られるアナフィラキシーショック反応の日内変動が消失することを見出した。この結果は、マスト細胞の概日時計がアナフィラキシーショックの反応の強さを時間依存的調節にコントロールし、その中心的役割を果たしていることを示している。

(2) 腹腔内マスト細胞を経時的にマウスから単離し、その高親和性 IgE 受容体 (Fc RI) の発現を検討した結果、Fc RI がマウス休息期に高く活動期に低い発現変動を示すこと、さらに Fc RI 発現を調節する転写因子 PU.1 の発現も時間依存性を示すことが明らかになった。さらにこの時間依存性変化はマスト細胞選択的に Clock 遺伝子の変異したマウスでは消失していた。

また休息期に単離した腹腔内マスト細胞を Fc RI 鎖に対する抗体で刺激したときのヒスタミン量は活動期に単離したものと比べて有意に高く、Fc RI の発現量の変化と正の相関を示していた。

(3) カゼインキナーゼ I (CK1) 阻害薬を休息期のマウスに全身的に 6 日間連続投与しマスト細胞の時間の位相を活動期に変えたときにアナフィラキシーショックを誘導するとその強さがコントロールマウスと比較して有意に軽減することが見出された。

(4) 腹腔内マスト細胞を経時的にマウスから単離し、その IL-33 受容体 (ST2) の発現を検討した結果、ST2 がマウス休息期に高く活動期に低い発現変動を示すこと、さらにこの時間依存性変化はマスト細胞選択的に Clock 遺伝子の変異したマウスでは消失していた。

また休息期に単離した腹腔内マスト細胞を IL-33 で刺激したときの IL-6, IL-13, TNF- α の産生量は活動期に単離したものと比べて有意に高く、ST2 の発現量の変化と正の相関を示していた。

以上の結果から、マスト細胞の概日時計が転写因子レベルでマスト細胞の Fc RI (および ST2) 発現調節を時間依存的に行うことによってアナフィラキシーショックを休息期に活動期より重症化させることが明らかになった。

さらにこの結論に合致してマスト細胞の時間の位相を変化させる薬剤によってアナフィラキシーショックを軽減できることが明らかになった。

本知見はアナフィラキシーショックの病態生理についてこれまでまったく想定されていなかった視点を提供し「時間」を考慮する新たな予防・治療戦略を提唱する。特に、概日時計が PU.1 あるいは Fc RI 発現調節をおこなっている分子メカニズムを今後さらに詳細に解明することによって新規のアナフィラキシーショック治療の標的分子・経路が明らかになることが期待される。

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 6 件)

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 査読あり 2017 [Epub ahead of print]
DOI:10.1016/j.jcmgh.2017.03.010

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 査読あり 2017 [Epub ahead of print] (*These authors contributed equally to this work.) (Impact Factor=IF:2.355)
DOI:10.1016/j.alit.2017.02.004.

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 査読あり 7 Article number:39934, 2017 (IF:5.228)
DOI: 10.1038/srep39934.

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. International Archives of Allergy and Immunology 査読あり 171(2)111-118, 2016 (IF:2.667)
DOI: 10.1159/000450954.

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. Journal of Allergy and Clinical Immunology 査読あり 137(4)1226-1235, 2016 (IF:12.485)
DOI: 10.1016/j.jaci.2015.08.052.

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 査読あり 135:3001-3008, 2015 (IF:6.915)
DOI: 10.1038/jid.2015.316.

[その他]

ホームページ等

山梨大学免疫学講座ホームページ

http://www.med.yamanashi.ac.jp/clinical_basic/para0imm/kenkyuu/kenkyuu.php

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石丸 かよ子 (ISHIMARU, Kayoko)

山梨大学・総合研究部・助教

研究者番号 : 10710353