

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年4月17日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21592173

研究課題名（和文）アレルギー性鼻炎根治を指向した SIRT1 蛋白研究の新しい展開

研究課題名（英文）The investigation of SIRT1 for permanent cure of allergic rhinitis

研究代表者 中丸 裕爾 (NAKAMARU YUJI)

北海道大学・北海道大学病院・講師

研究者番号：20344509

研究成果の概要（和文）：

ヒト肥満細胞株（HMC-1）を用い SIRT1 の活性化剤と阻害剤を加えカルシウムイオノフォー（A23187）と PMA にて刺激した。Real time PCR 法にて IL-4 の産生量を検討した。また、ELISA 法にて IL-4 蛋白濃度を測定した。

SIRT1 活性化剤にて処理をすると、IL-4 の mRNA 量が減少した。また蛋白レベルでも IL-4 蛋白量が減少した。逆に SIRT1 阻害剤で処理をした細胞では、IL-4 の mRNA、蛋白量が阻害剤の濃度依存的に増加した。

ヒト肥満細胞における IL-4 産生において SIRT1 蛋白は抑制的に働くことが示された。

研究成果の概要（英文）：

To investigate the role of SIRT1 for the production of IL-4 in human mast cell, we used activator and inhibitor of SIRT1. Cells treated with SIRT1 activator decreased IL-4 production. On the other hand, the SIRT1 inhibitor increased IL-4 production in human mast cells.

The SIRT1 protein thought to be negatively modulate IL-4 production in human mast cell.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：SIRT1、IL-4、肥満細胞

1. 研究開始当初の背景

近年ヒストン蛋白が修飾を受けクロマチンが構造変化することで DNA からの転写が調節されていることが判明してきた。

アレルギー性疾患においてもナイーブ T 細胞から Th2 型細胞への分化の本質がクロマチンの構造変化に起因することが示され、発症や炎症の維持にクロマチンリモデリングが重要な役割を果たすことが知られている。

2. 研究の目的

今回の研究ではクロマチンリモデリングに重要なヒストン脱アセチル化作用を持つ SIRT1 蛋白に注目し、肥満細胞の IL-4 産生におけるこの蛋白の役割を検討した。

3. 研究の方法

実験にはヒト肥満細胞株 (HMC-1) を用いた。HMC-1 に SIRT1 の活性化剤 (resveratrol) と阻害剤 (splitomysin) を加えたのちカルシウムイオノファー(A23187)と PMA にて刺激した。刺激後、4 時間培養後に細胞を回収した。回収した細胞より mRNA を採取し、Real time PCR 法にて IL-4 の産生量を検討した。また、カルシウムイオノファーと PMA で細胞刺激し、24 時間培養後、培養上清を回収した。ELISA 法にて IL-4 蛋白濃度を測定した。

また、HMC-1 に SIRT1 の siRNA を導入し SIRT1 の遺伝子を knock down した。SIRT1 遺伝子を knock down した細胞と scramble(関係のない遺伝子) を導入した細胞をカルシウムイオノファーと PMA で細胞刺激し、IL-4 の産生量を測定した。

4. 研究成果

SIRT1 活性化剤 (resveratrol) にて処理をす

ると、IL-4 の mRNA 量が resveratrol の濃度依存的に減少した。また蛋白レベルでも resveratrol の濃度依存的に IL-4 蛋白量が減少した。逆に SIRT1 阻害剤 (splitomysin) で処理をした細胞では、IL-4 の mRNA、蛋白量が splitomysin の濃度依存的に増加した。

SIRT1 の遺伝子を knock down した細胞では、scramble(関係のない遺伝子) を導入した細胞とくらべて有意に IL-4 の mRNA 量が増加した。

ヒト肥満細胞における IL-4 産生において SIRT1 蛋白は抑制的に働くことが示唆された。

図表

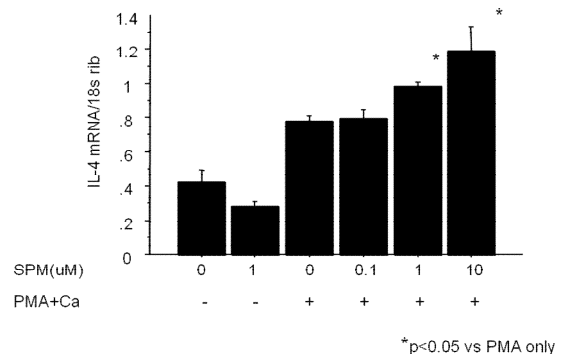


図 1 : SIRT1 阻害剤 (splitomysin:SPM) 添加時の IL-4mRNA 発現量の変化
阻害剤の濃度依存的に、IL-4mRNA の発現量が増加した

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 7 件)

- ① Nakamaru Y, Takagi D, Oridate N, Homma A, and Fukuda S: The Otolaryngologic Manifestations of Anti-neutrophil Cytoplasmic Antibody-associated Vasculitis,

Otolaryngology-Head and Neck Surgery

146 : 129-131(2012)、査読有

- ② **中丸裕爾** : アレルギー性鼻炎の診断と治療—薬剤師の皆さまにお願いしたいこと—、北海道薬剤師会雑誌 28 : 70-72 (2012) 査読無
- ③ **中丸裕爾** : 私の処方箋 再発性多発軟骨炎、*Johns* 27 : 1518-1519 (2012) 査読無
- ④ **中丸裕爾** : <第 38 回鼻科学臨床問題懇話会> 鼻副鼻腔病変の治療 決断の時 一炎症から癌まで—「鼻副鼻腔 inverted papiloma のマネ-ジメント」、*日本鼻科学会* 49 : 56-58 (2010) 査読無
- ⑤ **Nakamaru Y**, Furuta Y, Takagi D, Oridate N and Fukuda S : Preservation of the nasolacrimal duct during endoscopic medial maxillectomy for sinonasal inverted papilloma、*Rhinology* 48 : 452-456 (2010) 査読有
- ⑥ Yonekura S, Okamoto Y, Sakurai D, Horiguchi S, Hanazawa T, Nakano A, **Nakamaru Y**, et al. : Sublingual Immunotherapy with House Dust Extract for House Dust-Mite Allergic Rhinitis in Children、*Allergology International* 59 : 1-20 (2010) 査読有
- ⑦ **Nakamaru Y**, Vuppusetty C, Wada H, Milne JC, Ito M, Rossios C, Elliot M, Hogg J, Kharitonov S, Goto H, Bemis JE, Elliott P, Barnes PJ, Ito K : A protein deacetylase SIRT1 is a negative regulator of metalloproteinase-9、*FASEB J* 23 : 2810-2819 (2009) 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- ① **中丸裕爾** : Modified Lothrop Procedure に より内視鏡的に切除した前頭洞内に茎を持つ内反性乳頭腫症例、第 50 回日本鼻科学会総会・学術講演会、2011 年 12 月 2

日、岡山コンベンションセンター (岡山市)

- ② **中丸裕爾** : A new nasolacrimal duct preserve technique for endoscopic medial maxillectomy、第 14 回国際鼻科学会議 (I R S) ・ 第 30 回国際感染鼻科アレルギーシンポジウム (ISIAN)、2011 年 9 月 20 日、ANA InterContinental Tokyo (東京都)
- ③ **Nakamaru Y** : Otolaryngological features of ANCA associated vasculitis、American Academy of Otolaryngology- Head and Neck Surgery Foundation Annual Meeting 、 2011 年 9 月 11-14 日 (ポスター発表)、Moscone Center (米国・サンフランシスコ) (招待講演)
- ④ **中丸裕爾** : 鼻副鼻腔内反性乳頭腫に対する内視鏡下内側上顎切除術における鼻涙管保存法、第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2011 年 5 月 20 日、国立京都国際会館 (京都市)
- ⑤ **中丸裕爾** : 耳鼻咽喉科領域における ANCA 関連血管炎症候群 : PR3-ANCA 陽性症例と MPO-AMCA 陽性症例の臨床症状の差異、第 29 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2011 年 2 月 11 日、全日空ホテルオアシスタワー (大分市)
- ⑥ **中丸裕爾** : ANCA 関連血管炎症候群の耳症状、第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 25 日、東京国際フォーラム (東京都)
- ⑦ **Nakamaru Y** : SIRT1 regulates IL-4 gene expression in human mast cell、Europe Rhinologic Society & 29th ISIAN、2010 年 6 月 21-24 日、Centre International de Conference Geneve(Geneva ・ Switzerland)
- ⑧ **中丸裕爾** : 難治性前頭洞嚢胞に対する Frontal trephnatio、第 11 回耳鼻咽喉科手術支援システム・ナビ研究会、2009 年 11 月 14 日、石川県教育会館 2F 第 1 会議室

(金沢市)

- ⑨ 中丸裕爾: 肥満細胞における SIRT1 による IL-4 産生調節、第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2009 年 10 月 31 日、秋田キャッスルホテル他 (秋田市)
- ⑩ 中丸裕爾: 鼻副鼻腔 inverted papilloma のマネージメント、第 48 回日本鼻科学会学術講演会、2009 年 10 月 1 日、島根県民会館他 (松江市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中丸 裕爾 (NAKAMARU YUJI)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号: 20344509

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし