

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07747

研究課題名(和文) マスト細胞の酸化還元応答に関与する遺伝子群の網羅的解析と治療・創薬開発への応用

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of genes involved in redox responses in mast cells and their application to treatment and drug discovery

研究代表者

寺田 知新(Terada, Tomoyoshi)

岐阜大学・医学部・教授

研究者番号：30345780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マスト細胞はアレルギー反応の即時相におけるエフェクター細胞としての役割と、遅発相におけるコンダクターとしての役割が重要である。加重遺伝子共発現ネットワーク分析(WGCNA)を用いて、マスト細胞の抗原抗体反応後の遺伝子の発現パターンの類似性を解析し、10のモジュールを同定した。タンパク質間相互作用(PPI)ネットワークを構築し、さらにPPIクラスターを同定した。細胞周期やミトコンドリアの翻訳、mRNAのスプライシングなどに関するパスウェイを同定し、ハブ遺伝子の候補も同定した。本研究で明らかとなったパスウェイやハブ遺伝子は、マスト細胞をターゲットとした創薬開発の一助になることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マスト細胞は還元能を有する細胞であることを明らかにした。GEOデータベースのマイクロアレイデータを用いて、マスト細胞の抗原抗体反応における機能未知遺伝子も含めた遺伝子ネットワークを構築した。WGCNAを用いてマスト細胞の遺伝子群の発現パターンの類似性を解析してモジュールを同定し、重要なモジュールのPPIネットワークを構築した。また、マスト細胞の抗原抗体反応に重要なパスウェイやハブ遺伝子の候補を同定した。これらの発見は、アレルギー疾患の予防・治療およびマスト細胞特異的に作用する創薬の開発などに資することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Mast cells play an important role as effector cells in the immediate phase of allergic reactions and as conductors in the late phase. Using weighted gene co-expression network analysis (WGCNA), we analyzed the similarity of gene expression patterns after antigen-antibody reactions in mast cells and identified 10 modules. We constructed a protein-protein interaction (PPI) network and further identified PPI clusters. We identified pathways involved in the cell cycle, mitochondrial translation, mRNA splicing, etc., and identified several hub genes. The pathways and hub genes identified in this study are expected to aid in the development of drug discovery targeting mast cells.

研究分野：アレルギー学

キーワード：マスト細胞 加重遺伝子共発現ネットワーク分析 PPIネットワーク pathway解析 hub genes

1. 研究開始当初の背景

我が国のアレルギー疾患の有病率は上昇の一途をたどっている。総人口のおよそ半数の人々がアトピー性皮膚炎、気管支喘息、花粉症などをはじめとするなんらかのアレルギー疾患に罹患していると言われており、アレルギーの病因、病態の解明に加え、その診断、予防、治療のさらなる進歩や創薬開発に期待が高まっている。一方、アレルギー疾患については幅広い研究が行われているが、種々の要因が密接に関係するために、解決しなければならない課題が山積している。

マスト細胞は全身の組織に広く分布しており、その数はリンパ球の総数に匹敵するといわれるほど多い。またアレルギー反応の即時相におけるエフェクター細胞としての重要性だけでなく、マスト細胞の産生するサイトカインを介した遅発相におけるコンダクターとしての役割も重要視されている。このため、アレルギー性炎症を増悪させる主因である可能性が高いと考えられている。

アレルギー疾患と酸化ストレスの関連から考察を加えると、酸化ストレスにより気管支喘息が増悪することが明らかにされている一方で、ロイコトリエン C₄ の産生に関しては抑制するという知見もあり詳細は不明である。マスト細胞は特に皮膚・気道・消化管粘膜などの血管周囲に多く存在するため、局所におけるレドックス応答に対するマスト細胞の役割については不明な点が多いものの、病態に深く関わっている可能性が高いと考えられた。

2. 研究の目的

マスト細胞が生体のレドックス(酸化還元)応答に与える影響を明らかにする。またマスト細胞の抗原抗体反応における発現変動遺伝子のリストを作成する。さらに WGCNA の手法を用いて機能未知遺伝子も含めた遺伝子ネットワークを構築する。これらの手法を駆使して創薬のターゲットになりうる標的遺伝子(群)を同定し、アレルギー疾患の予防・治療およびマスト細胞特異的に作用する創薬の開発などに資することを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

マスト細胞のアルブミンの酸化還元比に与える影響について、骨髄由来培養マスト細胞(BMMC)を無刺激および抗原抗体反応後 1、2、3 時間培養後の 1%ヒト血清アルブミンを含んだ培養上清を回収後、各々高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いて測定し、アルブミンの酸化還元比を検討する。

公開されているデータベース(Gene Expression Omnibus(GEO)データベース)から、骨髄由来培養マスト細胞(無刺激、DNA-IgE 感作および DNA-IgE 感作+DNA-BSA 刺激群)のマイクロアレイデータを収集する。収集したマイクロアレイデータを用いて、マスト細胞の酸化還元応答に特に強く影響すると判断される遺伝子(遺伝子群)をはじめ、発現変動遺伝子のリストを作成する。また差次的発現遺伝子(DEGs)の同定を行う。また WGCNA を用いて機能未知遺伝子も含めた遺伝子ネットワークを構築する。また、マイクロアレイで得られた発現変動遺伝子の情報を全 PPI ネットワーク情報に mapping して可視化し、PPI への遺伝子発現情報の統合を行う。また、得られた PPI ネットワークについて PPI サブネットワークとして最大連結成分を抽出し、MCODE プログラムを用いて機能モジュールを推定する。PPI ネットワークにおいて重要な役割を果たす重要度の高い遺伝子を同定するために、Cytoscape プラグインである Cytohubba を使用してハブ遺伝子を同定する。また、重要な分子経路を同定するために、reactome pathway 解析も併せて行う。

4. 研究成果

マスト細胞は酸化型アルブミン(HNA)を還元型アルブミン(HMA)に変換していた。マスト細胞は還元能を有する細胞であることが明らかになった。

マウス BMMC(骨髄由来培養マスト細胞)に対して無刺激、DNA-IgE で一晚感作した、および DNA-IgE で一晚感作したのち DNA-BSA で 2 時間刺激したサンプルの遺伝子発現プロファイルが抽出されているマイクロアレイデータを GEO のデータベースからダウンロードした。シグナル強度を正規化した後、発現変動遺伝子のスクリーニングを行った。また、加重遺伝子共発現ネットワーク分析(WGCNA)を用いて、遺伝子間ネットワークを抽出し、10 のモジュールを同定した。各モジュールの有意性(MS)を計算し、DNA-IgE 感作群と DNA-IgE 感作+DNA-BSA 刺激群の比較において上位の MS 値を持つ blue、turquoise、yellow の 3 つのモジュールを解析対象とした。

次に 3 つのモジュールについて、PPI ネットワークを構築した。PPI ネットワークとして各々のモジュールの最大連結成分を抽出した。さらに密に接続された PPI クラスタを同定するために Cytoscape のアプリである MCODE を使用して解析し、blue、turquoise、yellow の PPI ネットワークで各々 15、38、34 の PPI クラスタを同定した。また、これらのクラスタについて Reactome pathway 解析を行った。高いスコアを持つクラスタについては、細胞周期やミトコンドリアの翻訳、mRNA のスプライシングなどに関するパスウェイを同定した(Fig.1(A)-(C))

Fig.1(A) blue

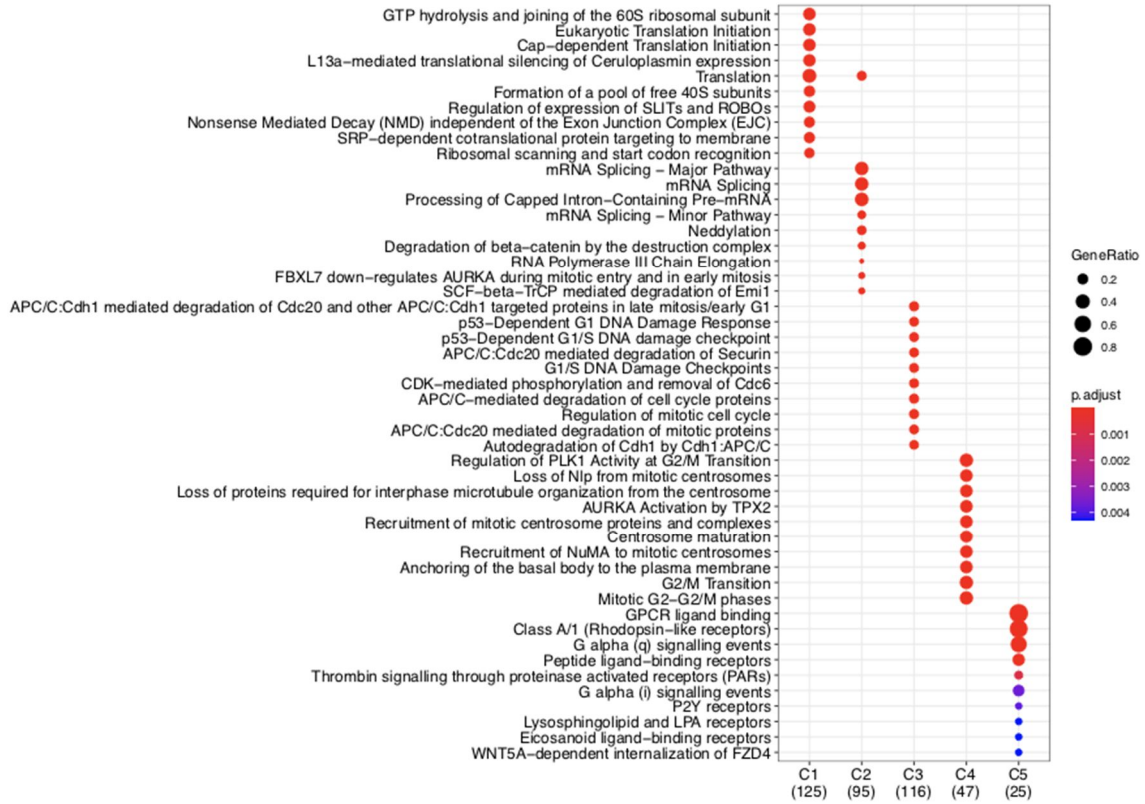


Fig.1(B) turquoise

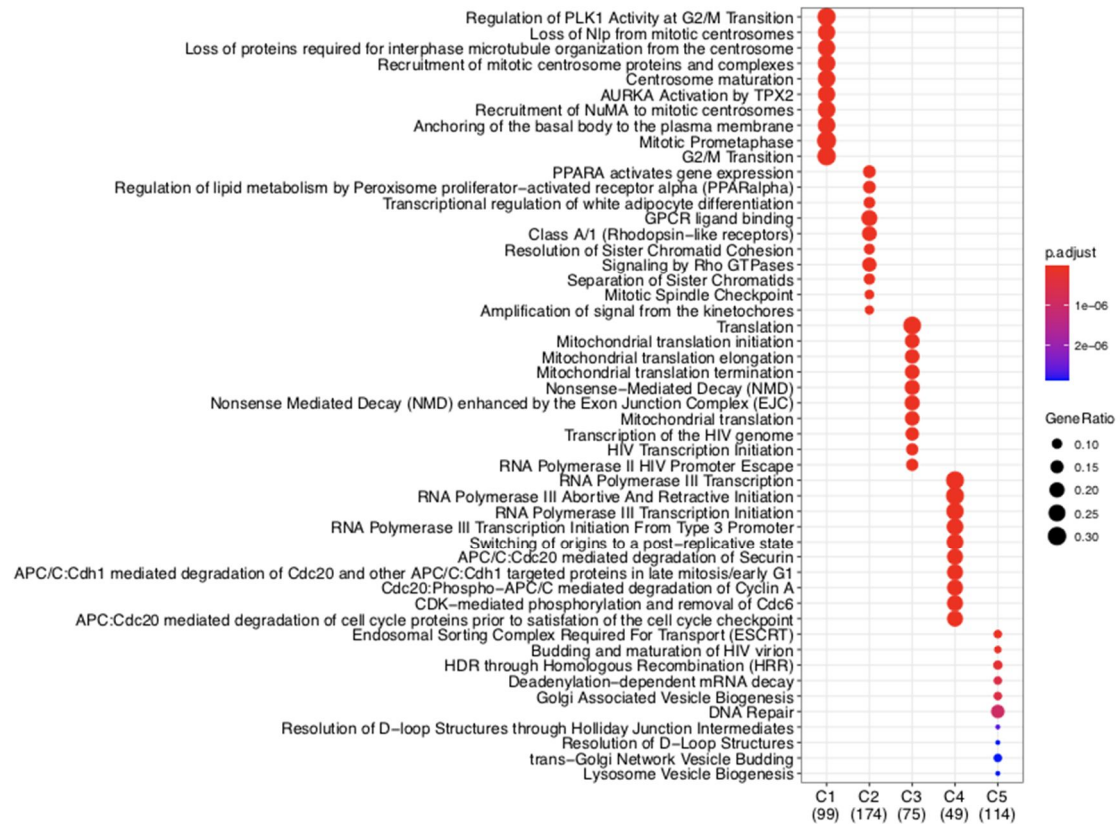


Fig.1(C) yellow



さらに CytoHubba を用いて、他の遺伝子と高度に連結したハブ遺伝子の同定を行い、接続数の多いハブ遺伝子の候補を同定した。今後これらの遺伝子の詳細な解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 佐々木智恵, 赤堀洋道, 寺田知新	4. 巻 3
2. 論文標題 アトピー性皮膚炎関連遺伝子についての文献検討	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 岐阜看護学ジャーナル	6. 最初と最後の頁 3-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuniyo Kondoh, Hiromichi Akahori, Yoshinori Muto, Tomoyoshi Terada	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of Key Genes and Pathways Associated with Preeclampsia by a WGCNA and an Evolutionary Approach	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 2134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes13112134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hajime Arikawa, Tomoyoshi Terada, Kanako Yamada, Teppei Takahashi
2. 発表標題 Vocalization during the post-exercise recovery period suppresses recovery of muscle oxygen status
3. 学会等名 The 100th Anniversary Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 有川 一, 寺田知新, 山田加奈子, 高橋哲平
2. 発表標題 運動後回復期における発声が換気・循環動態および筋酸素状態に及ぼす影響
3. 学会等名 第69回日本教育医学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hajime Arikawa, Tomoyoshi Terada, Kanako Yamada, Teppei Takahashi, Hajime Imai, Seichi Era
2. 発表標題 Effects of medium - and high-intensity sustained exercise with vocalization on ventilatory dynamics and muscle oxygen status - cases of subjects unaccustomed to vocalization during exercise -
3. 学会等名 The 99th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有川 一, 寺田知新, 山田加奈子, 高橋哲平, 今井 一, 恵良聖一
2. 発表標題 発声を伴う中・高強度持続的運動が筋酸素状態および酸化ストレスに及ぼす影響
3. 学会等名 第68回日本教育医学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

紹介資料 https://www.souyaku.gifu-u.ac.jp/outline/4f3e8e51e08c81520b4f7047a1595e8e.pdf

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	富田 美穂子 (Tomida Mihoko) (00366329)	日本体育大学・保健医療学部・期限付一般研究員 (32672)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------