

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591468

研究課題名(和文) T S L P シグナル解析を通じた樹状細胞の機能的可塑性を維持する機構の解明

研究課題名(英文) How dendritic cell functional plasticity is maintained? an approach from TSLP signal transduction study

研究代表者

有馬 和彦 (Arima, Kazuhiko)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号：60336112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：免疫応答の最前線に位置する樹状細胞は感染や炎症の特性に応じて異なる免疫応答を誘導する。この性質を樹状細胞の機能的可塑性と呼び、樹状細胞を活性化させる因子の質的・量的差異およびそれらの組み合わせによって生み出されると考えられている。樹状細胞のToll様受容体を介した活性化刺激はI型インターフェロン(IFN)産生を介して転写因子IRF8やSTAT4の発現を誘導するが、これらはTh1分化に重要なIL-12産生に関わる分子群である。一旦これらの分子の発現が増強されると樹状細胞のTh2分化誘導能は不可逆的に抑制される。すなわちI型IFN活性こそが樹状細胞の機能的可塑性を制御している主要な因子であった。

研究成果の概要(英文)：Dendritic cells (DCs) have functional plasticity, by which distinct immune responses are induced depending on the nature of infection and inflammation. This phenomenon is granted by the fact that DCs can be differentially activated by distinct activating agents. DC activation through Toll-like receptors results in IL-12 production together with expression of IRF8 and STAT4, critical components of the IL-12 genes transcription. I found that type I interferon (IFN-beta) can induce IRF8 and STAT4 via ERK activation, where Th2-promoting activity of DCs that can be induced by TSLP is irreversibly lost. Thus, the type I IFN is suggested as the major factor that controls DC functional plasticity.

研究分野：アレルギー学

キーワード：樹状細胞 可塑性 細胞内シグナル伝達 サイトカイン受容体 TSLP アレルギー

1. 研究開始当初の背景

免疫応答の最前線に位置し、自己と非自己の抗原認識に深く関わっている樹状細胞は各種感染や炎症の特性に応じて異なる免疫応答を誘導し得ることが知られている。この性質を樹状細胞の機能的可塑性と呼び、樹状細胞を活性化させる因子の質的・量的差異およびそれらの組み合わせによって生み出されると考えられている。われわれはこれまでにアレルギー発症に深く関わっているサイトカイン TSLP がヒト樹状細胞を活性化させる機構を明らかにしてきた。TSLP は主として上皮細胞から産生・分泌される分子であり、受容体欠損マウスでは実験的アレルギー症状の軽減が見られるなど、アレルギー治療の新規標的分子として注目されるようになっていた。

2. 研究の目的

TSLP によるユニークで多彩な樹状細胞活性化が生じる分子機構の解明、および Toll 様受容体 (TLR) を介した樹状細胞活性化シグナルとの比較を通じた、宿主の免疫応答誘導における樹状細胞の機能的可塑性に関する分子基盤の解明を目指した。

3. 研究の方法

ヒト末梢血由来のプライマリー樹状細胞および TSLP 受容体再構成細胞株を用いて TSLP のシグナル伝達を多面的に解析した。

4. 研究成果

まず、樹状細胞における TSLP の多彩なシグナル伝達が TSLPR 受容体と会合するタンパク質によってもたらされる可能性を探るために抗 TSLPR 抗体を用いた共免疫沈降実験を行った。TSLP 依存的に TSLPR に IL-7R α が会合することが示されたが、シグナル伝達に重要と考えられる JAK2 の会合は検出できなかった (図 1)。また、TSLPR が IL-7R α 以外のサイトカイン受容体鎖とともに機能する可能性を考え、15 種の既知のサイトカイン受容体鎖を TSLPR と共発現させてみたが、IL-7R α 以外とは強力なシグナル伝達を誘導することはなかった。しかしながら TSLPR は部分的に他のサイトカインシグナル活性に影響を与えることも明らかになったため、今後、更なる解析が必要である。

一方、TSLPR 細胞質内末端に ITAM 様モ

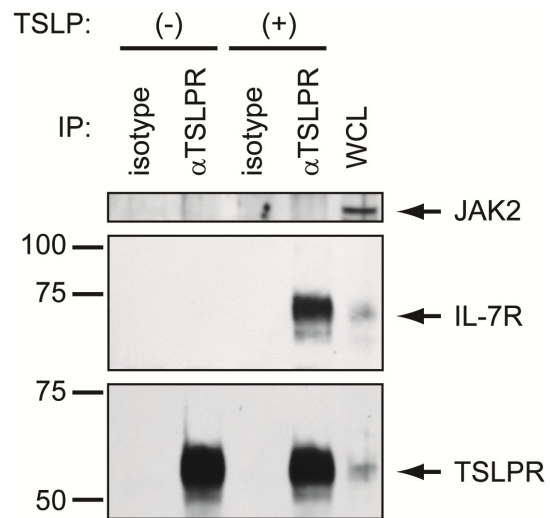


図 1. TSLPR と IL-7R α との TSLP 依存的会合

受容体再構成細胞において TSLP 刺激時のみ抗 TSLPR 抗体を用いた共免疫沈降にて IL-7R α が会合することが分かったが、JAK2 の会合は確認できなかった。WCL, 全細胞抽出液。

チーフ YVAL が存在していたため、この領域を介した多彩なシグナル活性化の可能性が予想された。そこで、HEK293T 細胞を用いて TSLP 受容体の再構成とともにレポーターアッセイを行ったが、Syk 活性化による NFAT 活性化は見られなかった (図 2)。TSLPR との会合分子同定は今後、受容体を強制発現させた細胞株ではなくプライマリー樹状細胞を用いて行うことが望まれる。

TSLP シグナルと TLR シグナルとの質的相違が樹状細胞の機能的可塑性を維持する分子基盤を明らかにする重要な知見と考え

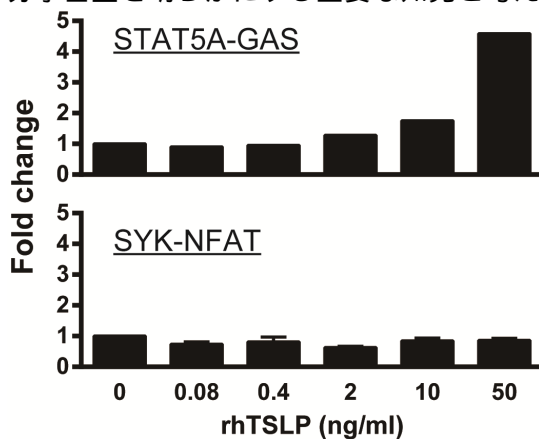


図 2. TSLP による Syk-NFAT 活性化は見られなかった。

受容体とともに STAT5A と STAT レポーター (GAS) を共発現させると TSLP の濃度依存的な STAT 活性化が認められるが、Syk と NFAT レポーターの共発現においては TSLP による NFAT 活性化は認めなかった。

られていたので、両シグナルの比較解析を行った。その結果 Th1 誘導を来す TLR3 リガンドや TLR8 リガンドによる IRF8, STAT4 発現誘導は ERK 活性化により抑制されていたが、インターフェロン(IFN)- β 刺激によって誘導することができた。IFN- β 自体は TLR3 リガンドによる樹状細胞活性化により IRF3 の活性化を介して産生されることが知られている。一旦 STAT4 の発現が誘導されると、TSLP 自体も STAT4 を活性化させることにより IL-12 産生に寄与する可能性があり、Th2 分化誘導能は失われることになる。つまり Th2 分化誘導に対して ERK 活性化は permissive に作用するが、I 型 IFN が産生されることで Th1 分化誘導能を獲得すると、Th2 分化誘導能は失われると考えられた。

本研究課題を通じてヒト樹状細胞の T 細胞活性化における機能的可塑性が I 型 IFN 活性によって調節されていることが明らかになった。

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 13 件)

1. Arima K, Ohta S, Takagi A, Shiraishi H, Masuoka M, Ohtsuka K, Suto H, Suzuki S, Yamamoto K-i, Ogawa M, Simmons O, Yamaguchi Y, Toda S, Aihara M, Conway SJ, Ikeda S, Izuhara K. Periostin contributes to epidermal hyperplasia in psoriasis common to atopic dermatitis. *Allergol Int* **64**: 41-8, 2015. (査読有り)
2. Taniguchi K, Arima K, Masuoka M, Ohta S, Shiraishi H, Ohtsuka K, Suzuki S, Inamitsu M, Yamamoto K-i, Simmons O, Toda S, Conway SJ, Hamasaki Y, Izuhara K. Periostin controls keratinocyte proliferation and differentiation by interacting with the paracrine IL-1 α /IL-6 loop. *J Invest Dermatol* **134**: 1295-304, 2014. (査読有り)
3. Izuhara K, Arima K, Ohta S, Suzuki S, Inamitsu M, Yamamoto KI. Periostin in allergic inflammation. *Allergol Int* **63**: 143-51, 2014. (査読有り)
4. Voo KS, Bover L, Harline ML, Vien LT, Facchinetti V, Arima K, Kwak LW, Liu YJ. Antibodies targeting human OX40 expand effector T cells and block inducible and natural regulatory T cell function. *J Immunol* **191**: 3641-50, 2013. (査読有り)
5. Shiraishi H, Masuoka M, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Taniguchi K, Aoki S, Toda S, Yoshimoto T, Inagaki N, Conway SJ, Narisawa Y, Izuhara K. Periostin contributes to the pathogenesis of atopic dermatitis by inducing TSLP production from keratinocytes. *Allergol Int* **61**: 563-72, 2012. (査読有り)
6. Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Aoki S, Toda S, Inagaki N, Kurihara Y, Hayashida S, Takeuchi S, Koike K, Ono J, Noshiro H, Furue M, Conway SJ, Narisawa Y, Izuhara K. Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. *J Clin Invest* **122**: 2590-600, 2012. (査読有り)
7. 有馬和彦, 白石裕士, 出原賢治. ペリオスチンによるアレルギー性炎症の増幅. *Cytometry Research* **25**: 13-18, 2015. (査読有り)
8. 有馬和彦, 出原賢治. ペリオスチン. *分子消化器病*. **12**: 87-91, 2015. (査読無し)
9. 有馬和彦, 出原賢治. ペリオスチンと炎症. *炎症と免疫* **22**: 247-250, 2014. (査読無し)
10. 出原賢治, 太田昭一郎, 有馬和彦, 鈴木章一, 稲光正子, 山本健一. 基礎研究の炎症疾患診断薬・治療薬開発への応用. *臨床病理* **61**: 900-908, 2013. (査読無し)
11. 出原賢治, 鈴木章一, 有馬和彦, 稲光正子, 山本健一, 増岡美穂, 太田昭一郎. 気管支喘息の分子病態. *アレルギー・免疫* **20**: 958-964, 2013. (査読無し)
12. 太田昭一郎, 谷口一登, 有馬和彦, 鈴木章一, 白石裕士, 増岡美穂, 出原賢治. オーダーメイド医療を目指したアレルギー疾患における病院診断システムの確立. *アトピー性皮膚炎の新規バイオマーカーの同定と血中濃度解析*. *臨床病理* **61**: 247-255, 2013. (査読無し)
13. 出原賢治, 有馬和彦, 鈴木章一, 太田昭一郎. IL-13. *アレルギー・免疫* **19**: 1884-1891, 2012. (査読無し)

[学会発表](計 4 件)

1. Arima K, Ohta S, Shiraishi H, Masuoka M, Ohtsuka K, Suzuki S, Suto H, Ikeda S, Izuhara K. Periostin

contributes to epidermal hyperplasia in psoriasis common to atopic dermatitis. 第 43 回日本免疫学会学術集会, 2014.12.10-12, 京都市, 京都府.

2. 有馬和彦, 白石裕士, 出原賢治. ペリオスチンによるアレルギー性炎症の増幅 (シンポジスト). 第 24 回日本サイトメトリー学会学術集会, 2014.6.28-29, 枚方市, 大阪府.
3. 有馬和彦, 出原賢治. 表皮におけるアレルギー性炎症の増悪化メカニズム (シンポジスト). 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2013.5.11-12, 東京都.
4. Taniguchi K, Arima K, Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Ontsuka K, Suzuki S, Hamasaki Y, Izuhara K. The IL-1 α /periostin/IL-6 axis contributes to the keratinocyte proliferation and differentiation in atopic dermatitis. 29th Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum, 2012.10.14-19, Jeju, Korea.

〔図書〕(計 6 件)

1. Izuhara K, Suzuki S, Arima K, Ohta S, Inamitsu M, Yamamoto K. Asthma. In: Metabolism of human diseases (E. Lammert & M. Zeeb Ed.). pp. 215-219, 2014, Springer, Vienna, Austria.
2. 有馬和彦, 出原賢治. 非免疫系細胞(上皮細胞・線維芽細胞)によるアレルギー病態形成. In: 病態の理解に向かうアレルギー疾患研究-なぜ、アレルギーが起こるのか? 発症・進展の新概念と臨床への展開 (椋島健治編). 実験医学 増刊. pp. 86-92, 2013, 羊土社, 東京.
3. Izuhara K, Shiraishi H, Ohta S, Arima K, Suzuki S. The roles of Th2-type cytokines in the pathogenesis of atopic dermatitis. In: Atopic dermatitis-Disease etiology and clinical management. pp. 39-50, 2012, INTECH Ltd., Rijeka, Croatia.
4. Izuhara K, Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S, Arima K. Periostin, an extracellular matrix protein, acts as a master switch for the onset of inflammation in atopic dermatitis. In: Translational Science: from basic to clinical immunology and allergy. pp. 211-214, 2012, Pacini Editore, Pisa, Italy.
5. 出原賢治, 有馬和彦, 鈴木章一, 白石裕

士, 太田昭一郎. インターロイキン 13) IL-13. In: サイトカインのすべて(完全改訂版) (臨床免疫・アレルギー科第 57 巻特別増刊号), pp. 91-96, 2012, 科学評論社, 東京.

6. 有馬和彦, 渡部則彦. 増殖因子 6) TSLP. In: サイトカインのすべて(完全改訂版) (臨床免疫・アレルギー科第 57 巻特別増刊号), pp. 536-544, 2012, 科学評論社, 東京.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 11 件)

1. 名称: アトピー性角結膜炎の検出方法
発明者: 出原賢治, 有馬和彦, 鈴木章一, 太田昭一郎, 斉藤博久, 松本健治, 岡田直子, 藤島浩
権利者: 国立大学法人佐賀大学, 独立行政法人国立成育医療研究センター, 学校法人総持学園鶴見大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2014/077635
出願年月日: 2014.10.17.
国内外の別: 国外
2. 名称: 眼科疾患を除くペリオスチン発現に起因する疾患用医薬、およびその用途
発明者: 出原賢治, 有馬和彦, 鈴木章一, 太田昭一郎, 吉川寿徳, 高尾和正, 島原明子
権利者: 株式会社アクアセラピューティクス, 国立大学法人佐賀大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2014/075683
出願年月日: 2014.9.26.
国内外の別: 国外
- 3,4. 名称: 慢性副鼻腔炎の検出方法
発明者: 出原賢治, 太田昭一郎, 有馬和彦, 白石裕士, 鈴木章一, 太田伸男, 石田晃弘, 鈴木祐輔
権利者: 国立大学法人佐賀大学, 国立大学法人山形大学
種類: 特許
番号: 14/354,355 (US), 12845463.4 (EP)
出願年月日: 2014.4.25(US), 5.23(EP)
国内外の別: 国外
5. 名称: 気管支喘息の予防又は治療薬及びそのスクリーニング方法
発明者: 出原賢治, 有馬和彦, 鈴木章一, 太田昭一郎
権利者: 国立大学法人佐賀大学
種類: 特許
番号: 特願 2013-555252
出願年月日: 2014.5.21.
国内外の別: 国内

6. 名称：アトピー性角結膜炎の検出方法
発明者：出原賢治，有馬和彦，鈴木章一，
太田昭一郎，斉藤博久，松本健治，岡田
直子，藤島浩
権利者：国立大学法人佐賀大学，独立行政
法人国立成育医療研究センター，学校法
人総持学園鶴見大学
種類：特許
番号：特願 2013-218612
出願年月日：2013.10.21.
国内外の別： 国内
7. 名称：眼科疾患を除くペリオスチン発現
に起因する疾患用医薬、およびその用途
発明者：出原賢治，有馬和彦，鈴木章一，
太田昭一郎，吉川寿徳，高尾和正，島原
明子
権利者：株式会社アクアセラピューティク
ス，国立大学法人佐賀大学
種類：特許
番号：特願 2013-202051
出願年月日：2013.9.27.
国内外の別： 国内
8. 名称：ペリオスチンの特定領域に結合す
る抗体及びこれを用いたペリオスチンの
測定方法
発明者：出原賢治，太田昭一郎，有馬和彦，
白石裕士，鈴木章一，星野友昭，東義則，
小野純也
権利者：株式会社シノテスト，国立大学法
人佐賀大学，学校法人久留米大学
種類：特許
番号：特願 2013-532647
出願年月日：2014.2.26.
国内外の別： 国内
9. 名称：気管支喘息の予防又は治療薬及び
そのスクリーニング方法
発明者：出原賢治，有馬和彦，鈴木章一，
太田昭一郎
権利者：国立大学法人佐賀大学
種類：特許
番号：PCT/JP2013/051120
出願年月日：2013.1.22.
国内外の別： 国外
10. 名称：慢性副鼻腔炎の検出方法
発明者：出原賢治，太田昭一郎，有馬和彦，
白石裕士，鈴木章一，太田伸男，石田晃
弘，鈴木祐輔
権利者：国立大学法人佐賀大学，国立大学
法人山形大学
種類：特許
番号：PCT/JP2012/78008
出願年月日：2012.10.30.
国内外の別： 国外
11. 名称：ペリオスチンの特定領域に結合す
る抗体及びこれを用いたペリオスチンの

測定方法
発明者：出原賢治，太田昭一郎，有馬和彦，
白石裕士，鈴木章一，星野友昭，東義則，
小野純也
権利者：株式会社シノテスト，国立大学法
人佐賀大学，学校法人久留米大学
種類：特許
番号：PCT/JP2012/072774
出願年月日：2012.9.6.
国内外の別： 国内

取得状況（計 1 件）

名称：増殖糖尿病網膜症の検出方法および予
防・治療剤のスクリーニング方法
発明者：出原賢治，太田昭一郎，有馬和彦，
白石裕士，鈴木章一，向野利寛，吉田茂生，
石橋達朗
権利者：国立大学法人佐賀大学，学校法人福
岡大学
種類：特許
番号：第 5555940 号
出願年月日：2010.4.14.
取得年月日：2014.6.13.
国内外の別： 国内

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.biomol.med.saga-u.ac.jp/medbiochem/index.php>

6. 研究組織

(1)研究代表者
有馬和彦 (ARIMA, Kazuhiko)
佐賀大学・医学部・准教授
研究者番号：60336112

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
井上久子 (INOUE, Hisako)
前 佐賀大学・医学部・助教
研究者番号：10437816