

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870172

研究課題名(和文) アレルギー疾患の新規治療法開発に向けた好塩基球の転写制御機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of the transcription factors to control the function and development of basophils.

研究代表者

二宮 一茂 (NINOMIYA, Kazusige)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・特任助教

研究者番号：20706999

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)：アレルギー疾患は患者数も多く、QOLの問題から根本治療が望まれている。近年、好塩基球がアレルギー疾患において重要な役割を果たしていることが明らかにされ、にわかに注目を集めている。今回の我々の研究により好塩基球の分化および機能に影響を与える転写因子としてGATA-1が非常に重要であることを明らかとなった。このことから、好塩基球のGATA-1をターゲットとしたアレルギー疾患の治療が有効である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：There are many patients suffering from various allergic diseases in developed countries. The effective drugs are desired to improve the quality of life of the patients. Recently, it has been revealed that basophils play an important role in develop and maintenance of these allergic diseases. In this study, we identified the transcription factor GATA-1 controls the differentiation and function of basophils. This study opens up the possibility that GATA-1 may be a therapeutic target for allergic diseases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：転写因子 アレルギー 免疫 寄生虫感染症

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎や喘息、花粉症といったアレルギー疾患は、国民病とも呼ばれ、患者数は増加の一途をたどっており、全国民の30%以上がなんらかのアレルギー疾患に罹患していると言われていいる。アレルギー疾患にはステロイド剤などの免疫抑制剤が良く用いられるが、対処療法的であり、再燃緩解を繰り返し、悪化するたびに薬を服用しなければならず、QOLが低く、医療費の増加の一因と言っても過言ではない。このような状況を打破するためにはアレルギー疾患の病理学的理解を深め、病気の原因に作用する根本的な治療法の開発が不可欠である。最近の我々の研究により、マウスモデルを用いた研究でアトピー性皮膚炎や花粉症の原因細胞として好塩基球が非常に重要な役割を果たしていることが見出された。これらのモデルにおいては好塩基球を除去する抗体を投与すると非常によく治癒する。このことから、好塩基球をターゲットとした治療法は新しいアレルギー疾患として重要であり、臨床的観点からも大変意義のあるものである。そこで我々は好塩基球をターゲットとした新規のアレルギー治療法の開発を目指し、好塩基球の分化機能に影響を与える転写因子に関して研究することにした。

2. 研究の目的

好塩基球の分化および機能をコントロールする分子が明らかになれば、好塩基球をターゲットとしたアレルギー疾患治療薬の開発につなげることが出来る。我々は好塩基球の分化および機能に影響を与える転写因子を明らかにする目的で、好塩基球の発現する転写因子を網羅的に解析し、分化および機能に与える影響を検討した。

3. 研究の方法

好塩基球が発現する転写因子を同定する目的で、マイクロアレイ法を用いて好塩基球が発現する転写因子を網羅的に検討した。得られたデータをその他の細胞種のマイクロアレイデータとMAプロット等で解析を行った。

好塩基球の分化に影響を与えるか転写因子の同定に関しては siRNA を導入してノックダウンしたもしくはノックアウトマウスの好塩基球の前駆細胞から *in vitro* で好塩基球を誘導できるかについて解析した。また、ノックアウトマウスの生体内での好塩基球の数をフローサイトメトリー法により解析を行った。好塩基球の機能に影響を与える転写因子の同定に関しては siRNA を導入してノックダウンした好塩基球を抗原特異的 IgE および抗原もしくは Ca 依存性のシグナル等で刺激し、サイトカイン産生、脱顆粒反応のレベルを ELISA 法で解析した。

4. 研究成果

好塩基球の分化および機能をコントロールする転写因子を同定する目的で、好塩基球が発現する転写因子を網羅的に検討した。いくつかの転写因子の発現が観察されたが、特に、造血系に重要とされている GATA ファミリーに着目したところ、GATA-1、GATA-2 を強く発現し、GATA-3 はほとんど発現していないことが明らかとなった。

次に、siRNA を用いたノックダウン法により得られた転写因子の好塩基球の機能に与える影響を検討した。その結果、GATA-1 をノックダウンすることにより IgE 依存性のサイトカイン産生、脱顆粒反応の低下が引き起こされることがわかり、GATA-1 が好塩基球の機能に非常に重要な役割を果たすことが明らかと

なった。

さらに、GATA-1 が好塩基球の分化に影響を与えるかを検討する目的で、GATA-1 の発現が低下している変異マウスである dbIGATA マウスを用いて解析を行った。このマウスでは好塩基球のGATA-1 の発現が 1/4 に低下している。このマウスでは、好塩基球の分化が抑制され、生体内での好塩基球の数も減少していた。また、このマウスの好塩基球の機能を検討したところ、siRNA でのノックダウン実験と同様に IgE 依存性のサイトカイン産生、脱顆粒反応の低下が引き起こされた。このマウスにアレルギー疾患を惹起したところ、炎症反応が抑制された。また、マイクロアレイにより dbIGATA マウスの好塩基球では Fc γ RI の下流のシグナル分子の発現低下が観察された。

以上のことより、GATA-1 が好塩基球の分化および機能に重要なことがわかり、そのメカニズムの一つが細胞内シグナル分子の発現調節である可能性が示唆された。また、この好塩基球の機能の抑制は in vivo におけるアレルギー疾患の炎症反応も低下させることから、好塩基球のGATA-1 をターゲットとした治療法がアレルギー疾患の治療に非常に有効であることが示された。

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 5 件) 全て査読有り

1. Schiechl G., Hermann F.J., Rodriguez Gomez M., Kutzi S., Schmidbauer K., Talke Y., Neumayer S., Goebel N., Renner K., Bruhl H., Karasuyama H., Obata-Ninomiya K., Utpatel K., Evert M., Hirt SW., Geissler EK.,

Fichtner-Feigl S., Mack M.: Basophils trigger fibroblast activation in cardiac allograft fibrosis development. *Am J Transplant.* 2016; in press. doi: 10.1111/ajt.13764.

2. Endo Y., Hirahara K., Inuma T., Shinoda K., Tumes DJ., Asou HK., Matsugae N., Obata-Ninomiya K., Yamamoto H., Motohashi S., Oboki K., Nakae S., Saito H., Okamoto Y., Nakayama T.: The interleukin-33-p38 kinase axis confers memory T helper 2 cell pathogenicity in the airway. *Immunity.* 42(2):294-308. doi: 10.1016/j.immuni.2015.01.016.
3. Tsai SH., Kinoshita M., Kusu T., Kayama H., Okumura R., Ikeda K., Shimada Y., Takeda A., Yoshikawa S., Obata-Ninomiya K., Kurashima Y., Sato S., Umemoto E., Kiyono H., Karasuyama H., Takeda K.: The ectoenzyme E-NPP3 negatively regulates ATP-dependent chronic allergic responses by basophils and mast cells. *Immunity.* 42(2):279-93. doi: 10.1016/j.immuni.2015.01.015.
4. Watanabe, Y., Onodera, A., Kanai, U., Ichikawa, T., Obata-Ninomiya, K., Wada, T., Kiuchi, M., Iwamura, C., Tumes, D. J., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K., and Nakayama, T.: Trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 111(35):12829-12834 (2014). /10.1073/pnas.1321245111
5. Morshed, M., Hlushchuk, R., Simon, D., Walls, A.F., Obata-Ninomiya, K., Karasuyama, H., Djonov, V., Eggel,

A., Kaufmann, T., Simon, H.U., and Yousefi, S.: NADPH oxidase-independent formation of extracellular DNA traps by basophils. *J Immunol.* 192(11):5314-5323 (2014). /10.4049/jimmunol.1303418

〔学会発表〕(計 3件)

1. Endo, Y., Asou, H. K., Matsugae, N., **Obata-Ninomiya, K.**, Yamamoto, T., and Nakayama, T.: Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, ACC1. 第44回日本免疫学会総会・学術集会 2015年11月18-20日、札幌コンベンションセンター(北海道、札幌市) (O/P) 11/18
2. **Obata-Ninomiya, K.**, Nei, Y., Tsutsui, H., Ishiwata, K., Miyasaka, M., Matsumoto, K., Nakae, S., Kanuka, H., Inase, N., Nakayama, T., and Karasuyama, H.: GATA-1 controls the generation and function of basophils. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日、国立京都国際会館(京都府、京都市) (O/P) 12/11
3. Watanabe, Y., Onodera, A., Ichikawa, T., **Obata-Ninomiya, K.**, Wada, T., Kiuchi, M., Morimoto, Y., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K., and Nakayama, T.: The trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日、国立京都国際会館、(京都府、京都市) (O/P) 12/12

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

二宮 一茂(NINOMIYA, Kazusige)
千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・
特任助教
研究者番号: 20706999

(2) 研究分担者 なし

()

研究者番号:

(3) 連携研究者 なし

()

研究者番号: