

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 5月24日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790946

研究課題名（和文） Liver X 受容体を介したアレルギー性炎症の制御

研究課題名（英文） Regulation of allergic inflammation by liver X receptor

研究代表者

布村 聡 (NUNOMURA SATOSHI)

日本大学・医学部・助教

研究者番号：70424728

研究成果の概要（和文）：

マスト細胞からの炎症性サイトカイン産生能を制御する新たな標的分子として、核内受容体の一つである Liver X 受容体(LXR) α および β に着目し、LXR 活性化によって発現が抑制されるサイトカインの同定とその制御機構の解析を行なった結果、LXR α ではなく LXR β を介して IL-1 α および IL-1 β の発現が抑制されることを明らかにした。これらの結果から、LXR β の活性化制御は、マスト細胞の炎症細胞としての働きを抑えるための有効なアプローチとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In the present study, we examined the role of liver X receptor (LXR) α and β , which are representative nuclear receptors, on regulation of cytokine production by mast cells. We demonstrated for the first time that activation of LXR α but not LXR β represses IL-1 α and IL-1 β expression in mast cells. These data suggest that regulation of LXR β activation may be a useful approach to repress mast cell function as inflammatory cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：マスト細胞，炎症，核内受容体，アレルギー

1. 研究開始当初の背景

マスト細胞が、アレルギー性慢性炎症における実効細胞として機能する理由の一つに、

Fc ϵ RI を介して様々な炎症性サイトカインを産生することが挙げられる。したがって、マスト細胞のサイトカイン産生能の抑制は、ア

アレルギー性慢性炎症の制御にとって有用なアプローチであると考えられる。Liver X 受容体 (LXR) α および β は脂質代謝を司る核内受容体として同定されたが、遺伝子欠損マウスを用いた研究から、近年、炎症反応に対して抑制作用を持つことが明らかにされた。マスト細胞においても LXR α および β の発現は認められるが、Fc ϵ RI を介して活性化されたマスト細胞からのサイトカイン産生に対する LXR 依存性の抑制機構の詳細に関しては、不明なままであった。

2. 研究の目的

本研究は、マスト細胞の炎症性サイトカイン産生能を制御する新たな標的分子として、核内受容体の一つである Liver X 受容体 (LXR) に着目し、LXR 活性化によって発現が抑制されるサイトカインの同定とその制御機構の解明を目指すものである。

3. 研究の方法

I. Gene Chip を用いた解析

Gene Chip を用いて、LXR を介して transrepression を受けるマスト細胞の炎症性サイトカインの同定を行なった。またステロイド処理群との比較により LXR に特異性の高い遺伝子群の選別を行なった。マスト細胞として、マウス大腿骨より採取した骨髓細胞から分化・培養した細胞 (BMMC) を用いた。また LXR α に対するアゴニストとして T901317 や GW3965 を、ステロイドとして Dexametason を用いた。マスト細胞の活性化を誘導する刺激剤としては、IgE+Ag, LPS を使用した。

II. LXR α および $\alpha\beta$ 欠損マウスから調製

したマスト細胞を用いた解析

Gene Chip により同定された LXR 特異的に transrepression を受ける遺伝子の発現抑制を司る LXR を明確にするために野生型、LXR α および LXR $\alpha\beta$ 欠損マウスから BMMC を調製し、解析を行なった。

4. 研究成果

LXR を介して発現が抑制されるマスト細胞の炎症性サイトカインの同定を Gene Chip を用いた網羅的解析により、行なった。ステロイドで処理した群との比較により、LXR 選択的に発現が抑制される遺伝子として 298 遺伝子を同定したが、炎症性サイトカインは存在しなかった。また、ステロイドにより発現が抑制される 1205 遺伝子群の内、LXR によっても抑制される遺伝子が 517 個認められ、それらの遺伝子群に、炎症性サイトカインとして IL-3, IL-1 α , IL-1 β , CXCL1 等が含まれていた。一方で IL-6 や TNF- α に対する LXR の発現抑制作用はほとんど認められなかった (図 1)。

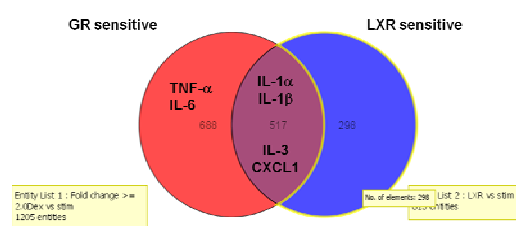


図 1

IgE+Ag 刺激によって産生が誘導される TNF- α , IL-1 α , IL-1 β に関して ELISA 法により、タンパク質レベルでの発現抑制作用を解析した

結果, Gene Chip で得られた結果と同様に, IL-1 α および IL-1 β に対しては発現抑制作用が認められたが, TNF- α に対しては発現抑制作用が認められなかった. さらに, LXR α 欠損マウスから調製したマスト細胞を用いて解析を行なった結果, 野生型のマスト細胞と同様に LXR の活性化により IL-1 α および IL-1 β の発現が抑制されることが明らかになった (図 2, 3) .

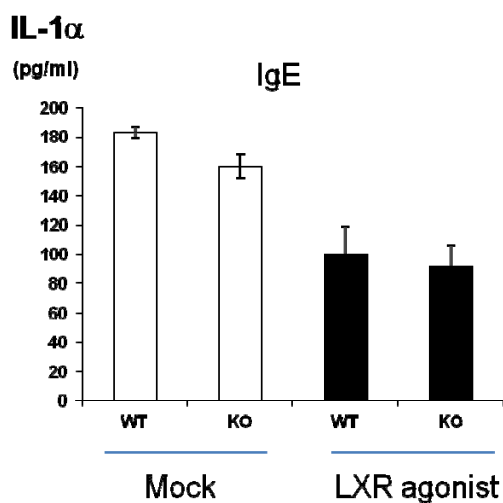


図 2

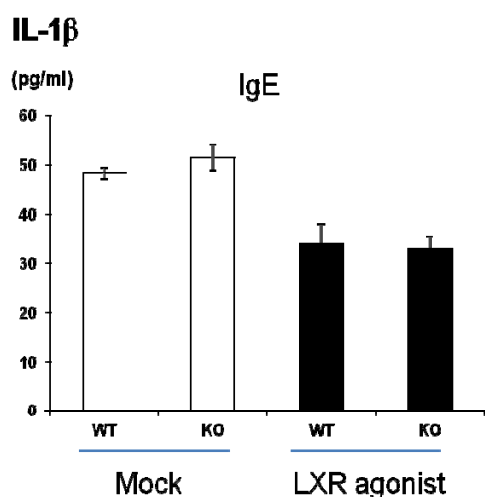


図 3

以上の結果から, LXR の活性化はマスト細胞における IL-1 α および IL-1 β の発現を転写レベルで抑制することが明らかとなり, また遺

伝子欠損マウスを用いた解析結果からは, LXR α ではなく, もう一つの LXR isoformである LXR β により発現抑制機構が制御されている可能性が示唆された.

そこで, さらに詳細な解析を行なった結果, ①LXRの活性化により, IgE+Ag, LPS刺激によるTNF- α 産生は抑制されなかった. ②LXRの活性化により, IgE+Ag刺激によるIL-6産生は抑制されないが, LPS刺激によるIL-6産生は抑制された (図 4) .

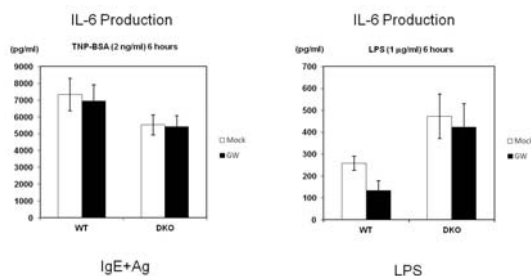


図 4

③LXRの活性化により, IgE+Ag, LPS刺激によるIL-1 α , IL-1 β の産性は抑制された. LXR α ではなくLXR $\alpha\beta$ のDKOマスト細胞でのみ, これらのサイトカイン産生抑制は誘導されなかった (図 5) .

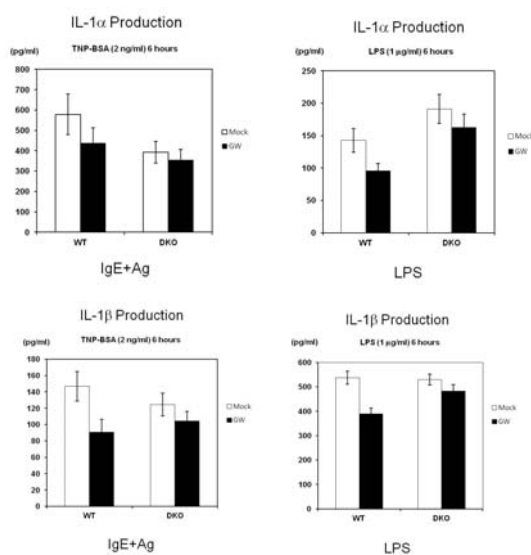


図 5

以上の結果から, LXRβがLXRを介したマスト細胞の炎症性サイトカインの産生抑制に重要な役割を果たしていることが明らかになった。ステロイドと異なり, TNF-α産生は抑制しないことからLXRの活性化が新たな抗炎症の作用点と成り得ると考えられた。今後は, LXRβの翻訳後修飾 (SUMO化) の役割について解析を進める予定である。

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 2 件)

1. Nunomura S, Makishima M, Ra c, Liver X receptors and immune regulation. Biomolecular concepts. 査読有 1(5-6), 2010, 381-387. DOI:10.1515/BMC.2010.030
2. 布村 聡, 榎島誠, 羅 智靖, Oxysterolによるマスト細胞活性化の制御, 臨床免疫・アレルギー科. 査読無 56(5), 2011, 642-647. <http://www.kahyo.com/item/M20112-566>

[学会発表] (計 1 件)

1. 布村聡, 遠藤香織, 榎島誠, 羅智靖, 25-hydroxycholesterolによるLXR依存性および非依存性のマスト細胞活性化抑制機構の解析, 第 60 回アレルギー学会秋季学術大会, 2010 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

布村 聡 (NUNOMURA SATOSHI)

日本大学・医学部・助教

研究者番号: 70424728