

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09786

研究課題名(和文) SCFは肥満細胞のIL-33依存性MHC class II発現を抑制させる

研究課題名(英文) Stem cell factor suppressed IL-33-induced MHC class II expression in mast cells

研究代表者

伊藤 友章 (ITO, TOMONOBU)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：70398767

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：IL-3で培養したBMMCをIL-33で処理後、SCFで刺激し解析した。IL-33単独処理したBMMCはMHC class IIを発現しているが、SCF添加により発現が低下していた。抗原-IgE応答に対する脱顆粒能は、IL-33単独処理したBMMCで増加したが、IL-6の産生能は変わらなかった。CIITA遺伝子のpromoter IIIとIVとH4がSCFにより発現低下した。これらの結果より、MHCクラスII発現が肥満細胞は、IL-33によって可逆的にMHC class IIを発現し、SCFは肥満細胞を安定・成熟させるために非常に重要である。

研究成果の概要(英文)：We report that stem cell factor (SCF) suppresses upregulated MHC class II expression in IL-33-treated mast cells. BMMCs in the IL-3-containing medium were treated with IL-33 in the presence or absence of SCF for a further 10 days. Simultaneous treatment of the BMMCs with IL-33 and SCF suppressed MHC class II expression and antigen (Ag)-mediated degranulation induced by the IL-33 treatment. However, the expression of c-kit and ST2 and the Ag-IgE-mediated production of IL-6 were not affected. The mRNA expression and H4 acetylation state of the MHC class II transactivator (CIITA) promoters III and IV in the BMMCs were suppressed by the simultaneous treatment with IL-33 and SCF, and restored by further treatment with imatinib, a c-kit inhibitor. These results confirm that MHC class II expression in mast cells induced by IL-33 is reversible and that SCF is a very important stabilization or maturation factor for MCs.

研究分野：皮膚科学

キーワード：肥満細胞 IL-33 SCF MHC classII

1. 研究開始当初の背景

Stem Cell Factor (SCF)は肥満細胞に発現している c-kit 受容体のリガンドであり、肥満細胞の分化・機能に大きく影響している。また、IL-33 は ST2 受容体が肥満細胞に強く発現し、肥満細胞の機能に大きな役割があることを報告した。我々は、IL-33 と SCF と転写因子 PU.1 との間に相関関係があり、またアトピー性皮膚炎患者などアレルギー疾患の発症に関与していると考えて研究を進めている。

2. 研究の目的

肥満細胞は IL-33 受容体である ST2 受容体を持ち、核内に IL-33 が存在する。最近我々は、成熟骨髄由来培養肥満細胞に recombinant IL-33 で 10 日間刺激すると MHC class II を発現する事を発見し、また得られた細胞は、脱顆粒能が亢進し、抗原提示能を持つ特性がある。MHC class II transactivator の promoter 解析を行ったところ、promoter の活性化し転写因子 PU.1 を介していることが分かった。一方、骨髄由来培養肥満細胞に IL-33 と SCF で刺激をすると、MHC class II の発現が減弱することを発見した。今回は、MHC class II が減弱した肥満細胞の抗原/IgE に応答した機能の確認、抗原提示能や MHC class II transactivator の promoter における SCF の影響などを確認する。また、ST2 受容体の signal pathway と c-kit 受容体の signal pathway の中で、転写因子 PU.1 がどのように影響しているかどうか検討する。

3. 研究の方法

(1) 長期間 IL-33 ± SCF 刺激による成熟肥満細胞の機能解析。IgE / 抗原応答における脱顆粒能の確認とサイトカイン産生。

Recombinant IL-33 で 4 週間培養した骨髄由来培養成熟肥満細胞を 10 日間 recombinant IL-33 と recombinant IL-33 ± SCF で刺激し、MHC class II 発現量を FACS と共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析し確認する。得られた細胞の肥満細胞様機能が抑制されているかを検討するために、脱顆粒能、抗原/IgE 応答の IL-6 産生能を測定する。

(2) MHC class II 陽性肥満細胞に対する SCF 刺激における転写因子 C/TA promoter の機能解析。

IL-33 誘導 MHC class II 肥満細胞の CIITA promoter I, III, IV について解析するために、Chip assay 法にて転写因子 PU.1 やその他の転写因子、ヒストン蛋白質との結合性を検討する。

(3) MHC class II 陽性肥満細胞に対する SCF 刺激における ST2 受容体のシグナル解析。

IL-33 誘導 MHC class II 肥満細胞をもちいて、SCF 添加後に ST2 signal pathway を western blotting 法にて確認する。

(4) MHC class II 陽性肥満細胞に対する SCF 刺激における c-kit 受容体のシグナル解析。

IL-33 誘導 MHC class II 肥満細胞をもちいて、SCF 添加後に kit signal pathway を western blotting 法にて確認する。

(5) c-kit inhibitor による MHC class II 発現の可塑性の検討。

c-kit inhibitor である、imatinib で前処理した IL-33 + SCF で刺激した肥満細胞において、MHC class II の発現の発現が低下することなく維持できるか確認する。

4. 研究成果

(1) 長期間 IL-33 ± SCF 刺激による成熟肥満細胞の機能解析。

肥満細胞に IL-33 で長期刺激すると MHC class II が発現誘導され、また IL-33 に SCF を添加すると MHC class II の発現低下を FACS (図 1) と共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫組織化学染色で確認した。

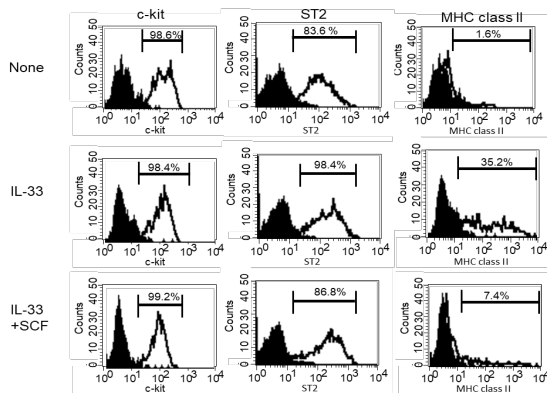


図 1

(2) I g E / 抗原応答における脱顆粒能の確認とサイトカイン産生。

抗原/IgE 応答における脱顆粒能は、IL-33 単独刺激では脱顆粒能亢進を認めるが、IL-33+SCF 刺激群では、脱顆粒能の低下を認めた。また、抗原/IgE 応答性の IL-6 産生量は IL-33 と IL-33+SCF では、差を認めなかった。

(3) SCF 刺激における転写因子 C TA promoter の変化。

IL-33 誘導 MHC class II 肥満細胞の CIITA promoter III, IV が誘導される。SCF 添加後には、mRNA について解析した。mRNA では、promoter III, IV では、発現の低下を認め、Chip assay 法にてヒストン蛋白質との結合能の低下を認めた。

(4) MHC class II 陽性肥満細胞に対する SCF 刺激における S T 2 と c - kit 受容体のシグナル解析。

SCF 添加後の ST2 と c - kit 受容体のシグナル解析を western blotting にて行った。ST2 と c - kit に関わるシグナル蛋白の変化は、IL-33 単独と IL-33+SCF とで差を認めなかった。また、転写因子 PU.1 と NF - kB も SCF 刺激において変化を認めなかった。

(5) c-kit inhibitor による MHC class II 発現の可塑性の検討。

c-kit inhibitor である、imatinib で前処理した IL-33 + SCF で刺激した肥満細胞において、MHC class II の発現の発現が低下することなく維持できるか確認した。

引用文献

Ito T, Smrž D, Jung MY, Bandara G, Desai A, Smržová Š, Kuehn HS, Beaven MA, Metcalfe DD, Gilfillan AM. Stem cell factor programs the mast cell activation phenotype. *J Immunol*.188:5428-5437, 2012.

Jung MY, Smrž D, Desai A, Bandara G, Ito T, Iwaki S, Kang JH, Andrade MV, Hilderbrand SC, Brown JM, Beaven MA, Metcalfe DD, Gilfillan AM. IL-33 induces a hyporesponsive phenotype in human and mouse mast cells. *J Immunol*.190:531-538, 2012.

Ito T, Egusa C, Maeda T, Numata T, Nakano N, Nishiyama C, Tsuboi R. IL-33 promotes MHC class II expression in murine mast cells. *Immun Inflamm Dis*.3: 196-208, 2015

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 9 件)

1: Iwasaki A, Ito T, Kawakami H, Nishiwaki K, Numata T, Saito M, Tsuboi R. A case of cholinergic urticaria with localized hypohidrosis showing sweat gland eosinophilic infiltration. *Allergol Int*. 66:495-496, 2017. 査読有

2: Numata T, Fukushi R, Ito T, Tsuboi R, Harada K. Acetaminophen anaphylaxis diagnosed by skin prick test. *Allergol Int*. 65: 490-491. 2016. 査読有

3: Numata T, Ito T, Maeda T, Egusa C, Tsuboi R. IL-33 promotes ICAM-1 expression via NF- κ B in murine mast cells. *Allergol Int*. 65: 158-165. 2016. 査読有

4: Jo R, Ito T, Egusa C, Maeda T, Numata T, Mae K, Saito M, Harada K, Tsuboi R. A case of immediate type of food allergy due to parvalbumin from soft-shelled turtle (Trionychidae) occurring in the working environment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 30:1419-1420.2016. 査読有

5: Numata T, Ito T, Egusa C, Kobayashi Y, Maeda T, Tsuboi R. A case of oral allergy syndrome due to star fruit sensitized from atopic hands. *Allergol Int*. 64:393-395, 2015. 査読有

6: Ito T, Egusa C, Maeda T, Numata T, Nakano N, Nishiyama C, Tsuboi R. IL-33 promotes MHC class II expression in murine mast cells. *Immun Inflamm Dis*.3: 196-208, 2015 査読有

7: Kobayashi T, Ito T, Kawakami H, Fuzishiro K, Hirano H, Okubo Y, Tsuboi R. Eighteen cases of wheat allergy and wheat-dependent exercise-induced urticaria/anaphylaxis sensitized by hydrolyzed wheat protein in soap. *Int J Dermatol*. 54:e302-305, 2015. 査読有

8: Kobayashi T, Ito T, Egusa C, Maeda T, Numata T, Okubo Y, Tsuboi R. A case of contact urticaria inducing anaphylaxis due to liliaceae vegetables in a hand

eczema patient. Allergol Int. 64: 211-213.2015. 査読有

9. Numata T, Kobayashi Y, Ito T, Harada K, Tsuboi R, Okubo Y. Two cases of allergic contact dermatitis due to skin-whitening cosmetics. Allergol Int. 64:194-195.2015.

査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

SCF は肥満細胞の IL-33 依存性 MHC class II 発現を抑制する。伊藤 友章, 江草 智津, 前田 龍郎, 沼田 貴史, 中野 信浩, 西山 千春, 坪井 良治 2015 第 64 回アレルギー学会学術大会 東京

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 友章 (ITO Tomonobu)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号 : (70398767)

(2) 研究分担者

西山 千春 (NISHIYAMA Chiharu)

東京理科大学・基礎工学部生物工学科・教授

研究者番号 :

(20327836)