

令和元年6月19日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15232

研究課題名(和文)ミトコンドリア機能制御による新規免疫療法の開発

研究課題名(英文)Development of new immunotherapy through the regulation of mitochondrial function

研究代表者

菅井 学 (Sugai, Manabu)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：90303891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：I型アレルギー反応はIgEによって誘導される有害な生体反応である。抗原に結合することによって、IgEは好塩基球やマスト細胞を刺激して、様々な炎症媒介物質を分泌させアレルギー反応を誘導する。アレルギーを抑えるための一つの方法としてステロイドを用いた免疫抑制があるが、この方法は他の有益な免疫反応も抑制してしまうといった負の側面を持つ。本研究では、アレルギーの原因となる抗原特異的IgEを減少させ、IgEと同じ抗原特異性を持ったIgAを増やすことによってアレルギーの新規治療法の確立を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギーをおさえるための一つの方法として、ステロイドを用いた免疫抑制がある。しかしこの方法は他の免疫反応も同時に抑制するといった負の側面から逃れられない。他方、アレルギーの根本的治療としての『脱感作療法』は、施術にかなりの熟練を要する。また一時的に治療が成功しても、再度アレルギー状況に陥ることもあり、効果の持続性に問題がある。しかし今回提案する方法は、今までにない発想に基づいた新しい治療法である。この研究で得られた結果は、この新規治療法の実現に必要な知見を提供する。

研究成果の概要(英文)：Allergic hypersensitivity disorders are characterized by an excessive immunoglobulin E (IgE) response. IgE stimulates basophils and mast cells to release biologically active mediators in an antigen-specific manner. Steroids is commonly used for treatment of allergic disease to dampen inflammatory response. However, steroids also inhibit useful immune reaction. In this study, we tried to develop novel therapeutic approach to improve allergic hypersensitivity through reducing responsible IgE antibody and enhancing protective IgA antibody, whose antigen specificity is the same as IgE.

研究分野：分子生物学 分子免疫学

キーワード：IgE IgA TGF- β レチノイン酸 クラススイッチ組換え 形質細胞分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

各種アイソタイプ抗体は、抗原への特異性を保ったまま、定常部領域遺伝子を組み換える(クラススイッチ組換え)ことによって産生される(Sugai et. al. Current Immunology Reviews 2005)。定常部領域は、抗体に生理的・病理的活性を付与しており、IgE 抗体は I 型アレルギーの根本的原因となる。私たちは IgE 特異的スイッチ抑制因子として Id2 を見いだした(Sugai et. al. Nat. Immunol. 2003/Id2 の誘導には TGF-b1 が必要であることも明らかにした)。IgA 抗体は粘膜から分泌され、外部から侵入する抗原に対する第一線の防御を担っている。私たちはさらに、クラススイッチ制御の分子機構を明らかにするとともに(Nambu et. al. Science 2003)、IgA クラススイッチを非常に強力に誘導出来る分化誘導系を確立した(Watanabe et. al. J. Immunology 2010/TGF-b1 とレチノイン酸:RA で同時に刺激することが重要であることを明らかにした)。さらに、IgE より下流に存在する定常部は IgA しかないことから、アレルギーを根本的に抑制するには抗原特異的 IgE 産生細胞を IgA にクラススイッチさせることが重要であると考えられるが、既に IgE にスイッチした細胞を IgA にさらにクラススイッチ誘導することは難しいことも分かってきた。

2. 研究の目的

本研究では、アレルギーの原因となる抗原特異的 IgE 抗体を、IgA にスイッチさせる事によって、アレルギーを治療する新しい治療法を確立する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) ミトコンドリア染色によって区別された『クラススイッチしやすい細胞』と、『形質細胞に分化しやすい細胞』の遺伝子発現量を調べクラススイッチを亢進させる機能を持った遺伝子を単離する。
(2) ミトコンドリア状態の変化を指標にして低分子化合物ライブラリーをスクリーニングし、クラススイッチ組換えを亢進させる候補化合物を検索する。
(3) (1) (2) で得られた遺伝子や低分子化合物を用いて、マウスアレルギー性鼻炎モデルに適応しその効果を評価する。

4. 研究成果

ミトコンドリア染色によって区別された『クラススイッチしやすい細胞』と、『形質細胞に分化しやすい細胞』の遺伝子発現量の違いを調べた結果、クラススイッチしやすい細胞で発現の高い遺伝子を多数同定した。これらの遺伝子を発現させるレトロウィルス発現ベクターを調製し、ナイーブ B 細胞を用いてクラススイッチ組換えへの影響を調べた結果、同定した遺伝子のうちいくつかはクラススイッチ誘導を亢進させる性質があった。しかし、これはナイーブ B 細胞特異的な現象であり、IgE にスイッチした B 細胞を IgA にスイッチさせる系では同様の性質を再現できなかった。クラススイッチを亢進させる低分子化合物も同定したが、こちらも IgE にスイッチした細胞から IgA にクラススイッチさせる系ではうまく働かなかった。このため、マウスアレルギーモデルを用いた解析は行っていない。今後は、IgE+B 細胞を用いた分化誘導系をスクリーニングに使用できるレベルにまで系の調製を行ってから、同様のアプローチで研究を進める予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 11 件)

1. Katsuhiko Itoh, Gen Kondoh, Hitoshi Miyachi, Manabu Sugai, Yoshiyuki Kaneko, Satsuki Kitano, Hitomi Watanabe, Ryota Maeda, Akihiro Imura, Yu Liu, Chizuru Ito, Shigeyoshi Itohara, Kiyotaka Toshimori and Jun Fujita
Dephosphorylation of protamine 2 at serine 56 is crucial for murine sperm maturation in vivo *Science Signaling* 26 Mar 2019:Vol. 12, Issue 574, eaao7232 (査読有り)
DOI: 10.1126/scisignal.aao7232
2. Akari Nitta, Isei Tanida, Ayumi Igarashi, Takashi Ueno, Manabu Sugai and Koji Aoki
Blocking LC3 lipidation and ATG12 conjugation reactions by ATG7 mutant protein containing C572S *Biochemical and Biophysical Research Communications* 508(2) November 2018 (査読有り)
DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.158
3. Yuji Yamazaki, Yukiko Nambu, Masashi Ohmae, Manabu Sugai and Shunsaku Kimura
Immune responses against Lewis Y tumor-associated carbohydrate antigen displayed densely on self-assembling nanocarriers *Organic & Biomolecular Chemistry* 16(43) October 2018 (査読有り)
DOI: 10.1039/C8OB01955J

4. Yu Isobe, Katsu Takahashi, Honoka Kiso, Kazumasa Nakao, M. Ikeno, Noriaki Koyama, Manabu Sugai, Akira Shimizu, Hironori Haga and Kazuhisa Bessho
Direct evidence for the age-dependent demise of GNAS -mutated cells in oral fibrous dysplasia *Archives of Oral Biology* 93 · May 2018 (査読有り)
DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.05.018
5. Kazuyuki Saito, Katsu Takahashi, Boyen Huang, Masakazu Asahara, Honoka Kiso, Yumiko Togo, Hiroko Tsukamoto, Sayaka Mishima, Masaki Nagata, Machiko Iida, Yoshihito Tokita, Masato Asai, Akira Shimizu, Toshihisa Komori, Hidemitsu Harada, Mary Macdougall, Manabu Sugai and Kazuhisa Bessho
Loss of Stemness, EMT, and Supernumerary Tooth Formation in Cebp^b-/-Runx2⁺-MURINE Incisors *Scientific Reports* 8(1):5169 · March 2018 (査読有り)
DOI: 10.1038/s41598-018-23515-y
6. Kentaro Mori, Harumi Nakamura, Hisanori Kurooka, Hitoshi Miyachi, Kota Tamada, Manabu Sugai, Toru Takumi and Yoshifumi Yokota
Id2 Determines Intestinal Identity through Repression of the Foregut Transcription Factor Irx5 *Molecular and Cellular Biology* 38(9):MCB.00250-17 · February 2018 (査読有り)
DOI: 10.1128/MCB.00250-17
7. Risa Ebina-Shibuya, Mitsuyo Matsumoto, Makoto Kuwahara, Kyoung-Jin Jang, Manabu Sugai, Yoshiaki Ito, Ryo Funayama, Keiko Nakayama, Yuki Sato, Naoto Ishii, Yasunobu Okamura, Kengo Kinoshita, Kohei Kometani, Tomohiro Kurosaki, Akihiko Muto, Masakazu Ichinose, Masakatsu Yamashita and Kazuhiko Igarashi
Inflammatory responses induce an identity crisis of alveolar macrophages leading to pulmonary alveolar proteinosis *Journal of Biological Chemistry* · 292 (44):jbc.M117.808535 September 2017 (査読有り)
DOI: 10.1074/jbc.M117.808535
8. Naoki Takahashi, Takako Saeki, Atsushi Komatsuda, Chishio Munemura, Takeaki Fukui, Naofumi Imai, Noriyuki Homma, Tsuguru Hatta, Ken-ichi Samejima, Takashi Fujimoto, Hiroki Omori, Yumi Ito, Yudai Nishikawa, Mamiko Kobayashi, Yukie Morikawa, Sachiko Fukushima, Seiji Yokoi, Daisuke Mikami, Kenji Kasuno, Hideki Kimura, Tomoyuki Nemoto, Yasunari Nakamoto, Kiyonao Sada, Manabu Sugai, Hironobu Naiki, Haruyoshi Yoshida, Ichiei Narita, Yoshihiko Saito and Masayuki Iwano
Tubulointerstitial Nephritis with IgM-Positive Plasma Cells *Journal of the American Society of Nephrology* 28(12):ASN.2016101074 · August 2017 (査読有り)
DOI: 10.1681/ASN.2016101074
9. Kazuyuki Saito, Katsu Takahashi, Masakazu Asahara, Honoka Kiso, Yumiko Togo, Hiroko Tsukamoto, Boyen Huang, Manabu Sugai, Akira Shimizu, Masaharu Motokawa, Harold Slavkin and Kazuhisa Bessho
Effects of Usag-1 and Bmp7 deficiencies on murine tooth morphogenesis *BMC Developmental Biology* 16(1) · December 2016 (査読有り)
DOI: 10.1186/s12861-016-0117-x
10. Yumiko Togo, Katsu Takahashi, Kazuyuki Saito, Honoka Kiso, Hiroko Tsukamoto, Boyen Huang, Motoko Yanagita, Manabu Sugai, Hidemitsu Harada, Toshihisa Komori, Akira Shimizu, Mary Macdougall and Kazuhisa Bessho
Antagonistic functions of USAG-1 and RUNX2 during tooth development *PLoS ONE* 11(8):e0161067 · August 2016 (査読有り)
DOI: 10.1371/journal.pone.0161067
11. 菅井学
ミトコンドリア機能と活性化B細胞分化 (査読なし)
医学のあゆみ 257(13) 1327 1328 2016年6月

[学会発表](計 1件)

1. Mitochondrial function in cell fate determination of activated B cells.
Manabu Sugai (Symposium) 生命科学系学会合同年次大会 2017年12月

〔図書〕(計 1件)

1. Koji Aoki and Manabu Sugai

Roles of the Epithelial Autophagy in the Intestinal Mucosal Barrier Chronic Inflammation: Mechanisms and Regulation

ISBN978-4-431-56068-5 eBook Springer (pp.603-616) October 2016 (査読有り)

DOI: 10.1007/978-4-431-56068-5_45

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。