

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10244

研究課題名(和文) 自然産生IgEの産生メカニズムの解明

研究課題名(英文) Underlying mechanism of natural IgE production

研究代表者

鬼頭 昭彦 (KITOH, Akihiko)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：40508438

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)：CD1d欠損マウスでは野生型マウスと比較して血清中IgE濃度と皮膚肥満細胞上のIgE結合量が有意に低かったことから、定常状態におけるIgEの自然産生にはCD1dが必須であることが明らかになった。IgEの自然産生はinvariant NKT (iNKT) 細胞の欠損、および、B細胞特異的なCD1d欠損により障害された。これらの結果から、定常状態におけるIgEの自然産生には、CD1dを介したiNKT細胞とB細胞の相互作用が重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

定常状態でのIgE産生量の適切な制御は個体の免疫恒常性維持に重要な役割を果たしており、IgE産生量の低下や過剰は、外来抗原に対する免疫応答の減弱やアナフィラキシーショックをおこすリスクの増大につながる事が知られている。本研究では、定常状態で存在するIgEは、CD1d依存性の特異的なメカニズムにより産生されていることを明らかにした。これは、これまで知られていた、外来抗原に対する抗原特異的なIgE産生メカニズムとは全く異なるユニークなメカニズムであり、免疫学的に非常に興味深い発見である。

研究成果の概要(英文)：Serum IgE levels and the amounts of IgE bound on skin mast cells were significantly lower in CD1d-deficient mice than wild-type mice, indicating the indispensable role of CD1d in natural IgE production under physiological conditions. Natural IgE production was impaired in both iNKT-deficient mice and B cell-specific CD1d-deficient mice. These results suggest that cognate interaction between iNKT cells and B cells via CD1d is essential for natural IgE production.

研究分野：免疫学

キーワード：IgE CD1d iNKT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外来抗原の感作により産生された抗原特異的 IgE は、生体内で肥満細胞の細胞表面上に発現する IgE 受容体 (FceRI) に結合し、特異的な抗原に曝露されるとこれらの細胞からの脱顆粒やサイトカイン産生などを誘導することで即時型アレルギーをはじめとする様々な免疫反応を惹起する。外来抗原に対する IgE の産生は厳格に制御されており、通常は IgG や IgA に比してはるかに少量かつ一過性にしか産生されない。しかし一方で、健常ヒトや SPF 環境下で飼育した野生型マウスにおいても、少量ながら有意な量の IgE が血清中に検出される。これは、定常状態において IgE が自然に産生されていることを示唆する。

IgE 欠損マウスでは、肥満細胞の機能異常によりハプテン抗原に対する接触過敏反応 (contact hypersensitivity; CHS) が著明に減弱し、ハプテン非特異的な IgE の投与によって CHS は回復することが報告されている (Bryce, et al., *Immunity* 2004)。また、IgE は FceRI への結合を介して、抗原非依存的に肥満細胞の生存や機能を制御する (monomeric IgE response) ことが *in vitro* の実験により示唆されている (Asai, et al., *Immunity* 2001; Kalesnikoff, et al., *Immunity* 2001)。これらの知見から、定常状態において自然に産生された IgE は、肥満細胞の monomeric IgE response を介して免疫応答の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、定常状態において IgE が自然に産生されるメカニズムについてはほとんど知られていない。

本研究代表者はこれまでに、非古典的 MHC 分子である CD1d を欠損するマウスでは、定常状態における血清中 IgE 濃度が低下しているという予備的な結果を得た。興味深いことに、卵白アルブミンの経皮感作に対する IgE 産生は CD1d 欠損マウスで障害されないと報告されている (Elkhal, et al., *J Allergy Clin Immunol* 2006)。これらの知見は、生体には免疫系を適切な状態に維持するため定常状態においても IgE を自然に産生するメカニズムが存在し、それは外来抗原に対する IgE 産生メカニズムとは異なる CD1d 依存性の特異的なメカニズムであることを示唆している。しかし、IgE が自然に産生される詳細なメカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、定常状態のマウスにおいて自然に IgE が産生されるメカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

BALB/c マウス、CBA/J マウスは日本チャールズ・リバーから購入した。CBA/N マウスは日本 SLC から購入した。CD1d 欠損マウス (BALB/c 背景)、J α 18 欠損マウス (BALB/c 背景) は谷口克博士より分与いただいた。CD79a 欠損マウス (BALB/c 背景) は近藤玄博士および廣田圭司博士との共同研究により、CRISPR/Cas9 法により作成した。実験ではすべて 7 週齢のメスを使用した。

4. 研究成果

(1) CD1d は定常状態における IgE の自然産生に必須である

CD1d 欠損マウスと野生型 BALB/c マウスの血清中 IgE 濃度を ELISA で測定したところ、CD1d 欠損マウスでは野生型マウスと比較して血清中 IgE 濃度が有意に低下していた。IgE 以外の免疫グロブリンサブクラスの濃度は低下していなかったことから、CD1d 欠損による IgE 低下は、全体的な低ガンマグロブリン血症によるものではなく、IgE の自然産生に特異的なメカニズムによるものであることが示唆された。また、CD1d 欠損マウスと野生型マウスの皮膚肥満細胞をフローサイトメトリーで解析したところ、CD1d 欠損マウスの皮膚肥満細胞は、高親和性 IgE 受容体を野生型マウスの皮膚肥満細胞と同等に発現していたが、細胞表面への IgE の結合量は著明に低下していた。さらに、CD1d 欠損マウスでは、野生型マウスと比較して、抗 IgE 抗体投与により誘発される肥満細胞依存性全身性アナフィラキシーの重症度が有意に軽減した。これらの結果は、CD1d 欠損による IgE レベルの低下が、実際に肥満細胞の機能に有意な影響をおよぼしていることを示唆する。

(2) 定常状態において IgE は B-2 B 細胞により産生されている

CBA/N マウスは、Btk 遺伝子の自然変異により B-1 B 細胞を欠損する、CBA/J マウスのコンジェニック系統である。CBA/J マウスと CBA/N マウスの血清中 IgE 濃度を ELISA で測定したところ同等であった。従って、定常状態において IgE は B-1 ではなく B-2 B 細胞により産生されていることが示唆される。

(3) 定常状態における IgE の自然産生には免疫細胞の CD1d 発現が必須である

CD1d は免疫細胞のような放射線感受性の細胞と上皮細胞やストローマ細胞などの放射線抵抗性の細胞のいずれにも発現する。放射線感受性の骨髄由来細胞でのみ CD1d を完全欠損する骨髄キメラマウスでは、コントロール群と比較して、定常状態における血清中 IgE 濃度および皮膚肥満細胞上の IgE 結合量が有意に低下していた。一方、放射線抵抗性の細胞でのみ CD1d を完全欠

損する骨髄キメラマウスでは、コントロール群と比較して、血清中 IgE 濃度、皮膚肥満細胞上に結合する IgE 量とも差がなかった。従って、定常状態における IgE の自然産生には免疫細胞の CD1d 発現が必須であることが示唆される。

(4) 定常状態における IgE の自然産生には invariant NKT (iNKT) 細胞が必要である
iNKT 細胞を欠損する Ja18 欠損マウスでは、野生型マウスと比較して血清中 IgE 値が有意に低下していた。

(5) 定常状態における IgE の自然産生には B 細胞上の CD1d 発現が必須である
B 細胞特異的に CD1d を欠損する骨髄混合キメラマウスでは、対照群と比較して血清中 IgE 値が有意に低下していた。また、野生型 B 細胞と CD1d 欠損 B 細胞を同等に有する骨髄混合キメラマウスの血清中 IgE は、ほとんどが野生型 B 細胞由来であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Akihiko Kitoh, Rintaro Shibuya, Kenji Kabashima
2. 発表標題 Natural IgE production requires iNKT cells and CD1d expression on B cells
3. 学会等名 ILC2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiko Kitoh
2. 発表標題 Indispensable role of CD1d in natural IgE production
3. 学会等名 IID 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Akihiko Kitoh, Rintaro Shibuya, Kenji Kabashima
2. 発表標題 Natural IgE production requires cognate iNKT-B interaction via CD1d
3. 学会等名 第48回 日本免疫学会学術集会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----