

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21890036

研究課題名（和文） 肥満細胞における脱顆粒制御機構の解析

研究課題名（英文） Analyses of regulatory mechanism of mast cell degranulation

研究代表者

鈴木 浩太郎 (SUZUKI KOTARO)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：90554634

研究成果の概要（和文）：1) NF- κ B の主要な分子である RelA は肥満細胞における抗原誘発性の脱顆粒の制御には関与していないが、炎症性サイトカインの産生に重要な役割を果たしており、アレルギー性炎症、遅延層の発症に寄与していると考えられる。2) STAT4 は I 型インターフェロン刺激による MCP-1 の産生に重要な役割を果たしており、ウイルス感染時に感染局所への monocyte や macrophage の誘導を促している可能性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：1) RelA, which is a main molecule of NF- κ Bs, is not involved in antigen-mediated degranulation from mast cells, but plays an important role in pro-inflammatory cytokine production leading to late phase allergic reaction. 2) STAT4 is essential for IFN- β -induced MCP-1 expression in mast cells. Because mast cells are distributed in almost all tissues, our results suggest that mast cells may be involved in the enhancement of the antiviral responses initiated by pDC by producing MCP-1 in response to type I IFNs-STAT4 signals.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010 年度	970,000	291,000	1,261,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：免疫学

キーワード：アレルギー、肥満細胞、脱顆粒

1. 研究開始当初の背景

肥満細胞は、多様な抗原の暴露により抗原特異的 IgE および高親和性 IgE receptor (Fc ϵ RI) を介して活性化され、ヒスタミンやロイコトリエンを代表とするケミカルメディエーターを含む細胞内顆粒を放出（脱顆粒）することにより、気管支喘息、アレルギー性

鼻炎等のアレルギー疾患の発症に中心的な役割を果たしている。肥満細胞における脱顆粒の分子メカニズムがほとんど解明されていないため、ヒスタミンやロイコトリエン等の代表的ケミカルメディエーターを標的とした薬剤が抗アレルギー薬として広く臨床の場で用いられているが、ケミカルメディエ

ーター全ての活性をブロックすることは困難であり、その臨床効果は不十分であった。

2. 研究の目的

本研究では、肥満細胞における脱顆粒の分子メカニズムを解明し、脱顆粒抑制による理想的なアレルギー疾患の治療法の開発に向けた基盤を構築することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 肥満細胞脱顆粒における RelA の役割

IKK2 の下流分子であり、NF- κ B classical pathway において標的遺伝子の転写活性化に重要な RelA に着目し、RelA 欠損マウス由来肥満細胞における (1) 抗原刺激時における肥満細胞脱顆粒能の解析 (2) 抗原刺激時の pro-inflammatory cytokine 産生における RelA の役割について解析を行った。

(2) 肥満細胞の I 型 IFN 応答における STAT4 の役割

他の細胞に比して肥満細胞に高発現している STAT4 に着目し STAT4 の脱顆粒における役割やウイルス感染時の免疫応答への関与が示されている I 型インターフェロン (IFN)-STAT4 経路の肥満細胞における役割を明らかにすることを目的として、① BMMC s における STAT4 の発現、② IL-12, IL-23, IFN- β 刺激による STAT4 のリン酸化、③ STAT4 欠損マウス由来 BMMC s の発達、④ STAT4 欠損マウス由来 BMMC s における脱顆粒、⑤ STAT4 欠損マウス由来 BMMC s における IFN- β 誘導性遺伝子の発現を検討した。

4. 研究成果

(1) 肥満細胞脱顆粒における RelA の役割

割

① RelA 欠損マウス由来肥満細胞は野生型由来の肥満細胞と同程度の脱顆粒能を有していた (図 1)。この結果より RelA は肥満細胞からの脱顆粒には関与していないことが示唆された。

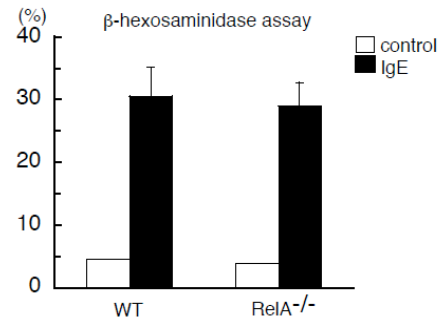


図 1 : RelA 欠損肥満細胞における脱顆粒能の解析

② RelA 欠損マウス由来肥満細胞は野生型由来の肥満細胞に比して、抗原刺激誘導性の炎症性サイトカイン (TNF- α , IL-6) の産生能が著明に減弱化していた (図 2、図 3)。以上の結果より RelA は、抗原刺激誘導性の炎症性サイトカイン産生に重要な役割を果たしていることが示唆された。

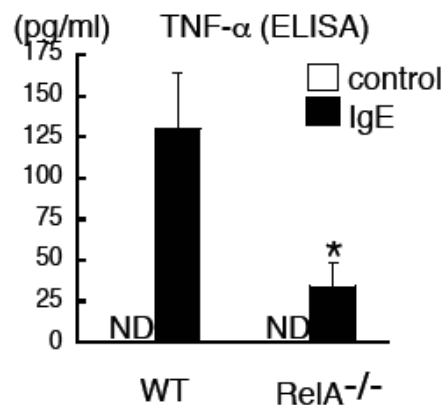


図 2 : RelA 欠損肥満細胞における TNF- α 産生能の解析

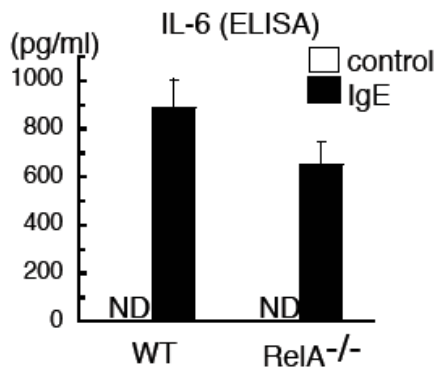


図3 : RelA 欠損肥満細胞における IL-6 産生能の解析

肥満細胞は顆粒成分に含まれるヒスタミンやロイコトリエンといったケミカルメディエーターを放出する(脱顆粒)ことより即時型アレルギー反応を惹起させ、また、炎症性サイトカインを産生することにより遅延型アレルギー反応を惹起することが知られている。従って上記の結果から RelA はアレルギー性炎症の即時相ではなく遅延相に重要な役割を果たしていると考えられた(図4)。

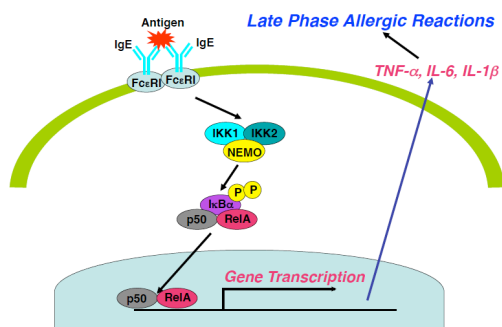


図4 : RelA は炎症性サイトカインの産生を促し、アレルギー性炎症遅延相の発症に重要な役割を果たしている。

(2) 肥満細胞の I 型 IFN 応答における STAT4 の役割

① 転写因子 STAT4 は CD4 陽性 T 細胞や NK 細胞など限定した細胞にのみ発現している

ことが知られているが、BMMCs においても STAT4 の発現が認められた(図5)。

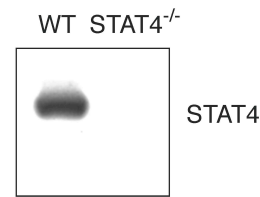


図5 : STAT4 はマウス骨髄由来肥満細胞に発現している。

② IL-12 や IL-23 刺激では STAT4 のリン酸化が見られなかったが、IFN-β 刺激により STAT4 のリン酸化が認められた(図6)。

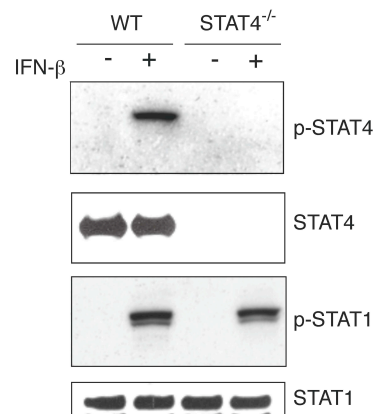


図6 : IFN-β 刺激による STAT4 のリン酸化

③ IL-3 依存性の肥満細胞の増殖(図7A)や肥満細胞の分化マーカーである c-kit や FcεRIα の発現は、STAT4 欠損 BMMCs においても野生型由来 BMMCs と変わりなかった(図7B)ことから、STAT4 は肥満細胞の発達には関与していないことが示唆された。

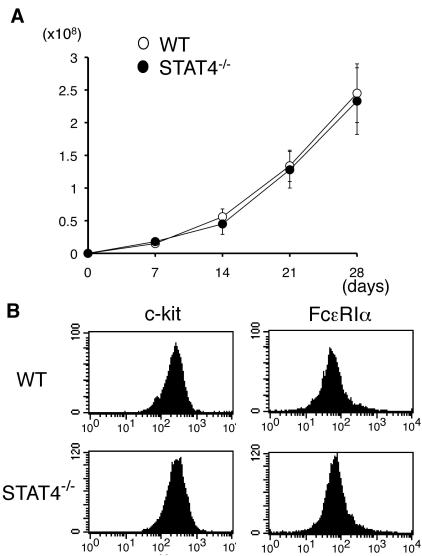


図 7 : A)IL-3 添加による細胞増殖。
B)BMDC における c-kit と FcεRIα の発現。

④STAT4 欠損マウス由来 BMDCs も野生型由来のものと同程度の脱顆粒能を有していた(図 8) ことから STAT4 は肥満細胞の脱顆粒には関与していないことが示唆された。

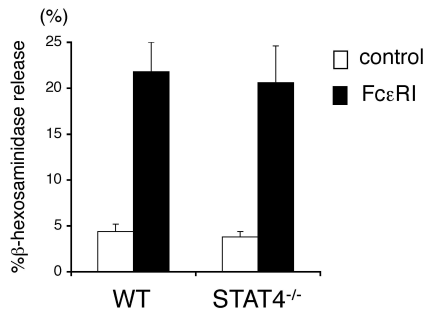


図 8 : Re1A 欠損肥満細胞における脱顆粒能の解析

⑤STAT4 欠損マウス由来 BMDCs では、IFN-β 刺激による IFIT1(図 9 A)や SOCS1(図 9 B)の発現誘導は野生型 BMDCs と同等に認められたが、MCP-1 の発現誘導は著明に減弱していた(図 9 C)。この結果より、肥満細胞に発現する STAT4 は、I 型 IFN による

MCP-1 の発現誘導に必須であることが示唆された。

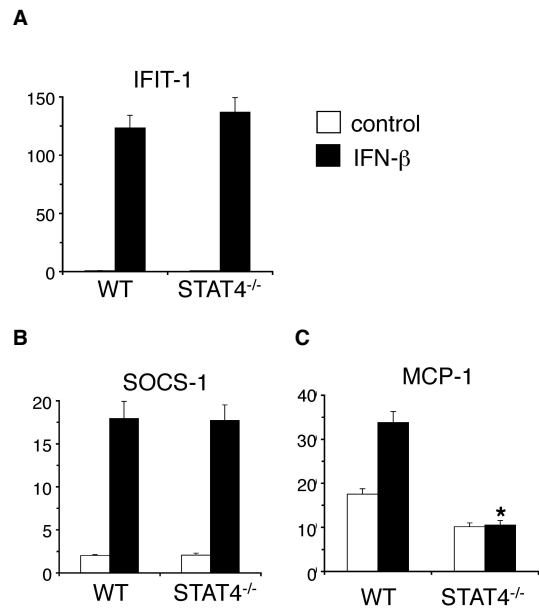


図 9 : IFN-β 刺激による遺伝子発現

I 型 IFN による MCP-1 の発現誘導は、ウイルス感染時の自然免疫応答に重要な役割を果たしていることから、肥満細胞に発現している STAT4 はその増幅機構に関与している可能性が示唆された(図 10)。

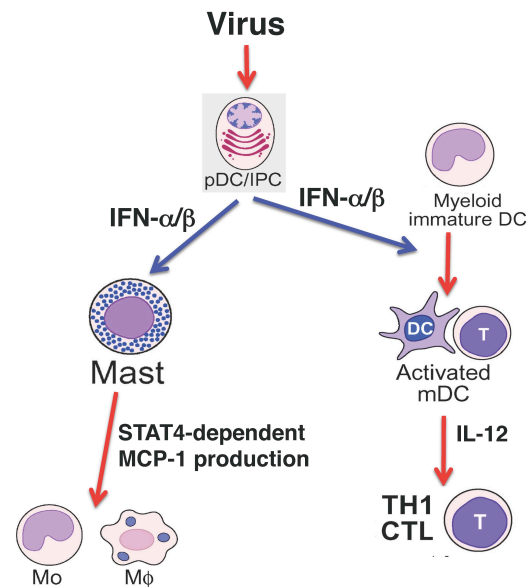


図 10 : ウイルス感染時における肥満細胞内 STAT4 の役割

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)

[学会発表] (計3件)

① 鈴木浩太郎、肥満細胞のI型IFN応答におけるSTAT4の役割の解明、第60回日本アレルギー学会秋季学術大会、平成22年11月27日、(東京)

② 鈴木浩太郎、The Role of STAT4 in Mast Cells、14th International Congress of Immunology、平成22年8月23日、(神戸)

③ 鈴木浩太郎、マスト細胞におけるRelAの役割、日本免疫学会総会、平成21年12月5日、大阪国際会議場(大阪府)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 浩太郎 (SUZUKI KOTARO)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：90554634

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：