

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893047

研究課題名(和文) 組織特異的マスト細胞鎮静化機構の解明と応用

研究課題名(英文) Elucidation and Application of Tissue-specific Regulatory System in Mast Cells

研究代表者

倉島 洋介 (Kurashima, Yosuke)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：30729372

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：免疫細胞の一つであるマスト細胞は、皮膚や血管などの結合組織や肺や腸などの粘膜面に広く存在しており、アレルゲンの暴露による活性化はアレルギー症状を引き起こすことが広く知られている。本研究では、マスト細胞が体の組織ごとに特徴的な遺伝子発現パターンを有しており、中でもマスト細胞の機能を調節するモチーフ(アミノ酸配列)を有する分子が皮膚のマスト細胞でのみ強く発現していることを明らかとした。この分子を欠損するマウスでは、皮膚炎症の増悪化が観察されることから、皮膚組織特異的なマスト細胞の活性化抑制因子であることが示され、当該分子の機能調節はマスト細胞を標的とした新たな皮膚疾患制御法になると期待される。

研究成果の概要(英文)： Mast cells are known as effector cells in various allergic diseases and have been classified into connective tissue type (e.g. skin, blood vessel, and peritoneal cavity) and mucosal tissue type (e.g. lung and intestinal mucosa). In this research, we have found tissue specific gene expression patterns in mast cells and a surface molecule bearing inhibitory motif was strongly expressed in the skin mast cells but not in mast cells located in the other tissues.

Mice lacking this molecule were sensitive to skin inflammations compared to wild type mice. These findings suggested that regulation of this molecule would be novel strategies for the suppression of skin inflammation.

研究分野：免疫学、粘膜免疫学

キーワード：マスト細胞 皮膚科学 接触性皮膚炎 線維芽細胞 受容体

1. 研究開始当初の背景

マスト細胞(もしくは肥満細胞)は、皮膚や消化管粘膜といった外界に接している組織に広く存在し、細菌や寄生虫に対する感染防御といった有益な生体反応に働いている。その反面、近年我が国において有病率が増加しているアトピー性皮膚炎や食物アレルギー、炎症性腸疾患といった疾患にも関与していることが示唆されており、マスト細胞の機能もしくはマスト細胞が産生する炎症性物質に対する阻害剤が、アレルギー疾患などの対症療法薬として臨床の場で広く用いられている。また、マスト細胞は皮膚といった結合組織と肺や腸管という粘膜組織とでは異なる性質を発現することが古くから知られていたが、この組織特性の調節および獲得メカニズムとその役割、疾患への関与については不明である。

2. 研究の目的

本研究では、マスト細胞の組織特性のかく乱が、体の様々な部位で起こる慢性炎症やアレルギーの発症につながる可能性に着目し、組織特異的なマスト細胞の機能抑制因子の探索とそれを用いた炎症性疾患の発症抑制法の確立を目指した。

我々は、これまでに細胞外 ATP に対する受容体の一つである P2X7 受容体が、粘膜型マスト細胞の活性化を司る分子であることを独自に開発した 1F11 抗体を用いた解析により明らかにし、更にマスト細胞に発現する P2X7 受容体の発現量が組織間で異なっていることを見出してきた (Kurashima Y et al., *Immunity* 2014)。同時に、マスト細胞の組織特異性を付与する組織細胞の探索から、組織間葉系細胞の一つである線維芽細胞の重要性が明らかとなってきた。つまり、組織内在性の線維芽細胞によるマスト細胞の抹消教育が皮膚組織の恒常性の維持に重要であることが徐々に明らかとなっている。

上記に加えて、本研究課題のターゲットとして抑制性シグナルの伝達が予想される受容体の一つが、皮膚マスト細胞で特異的に高発現していることを新たに明らかとした。上記の抑制受容体については、その他の組織中に存在するマスト細胞では発現していないことを見出した。そこで本研究では、マスト細胞における受容体(本報告書では受容体 A とする)の機能解析と受容体 A の誘導因子の同定を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、上述の受容体 A を欠損するマウスを入手もしくは樹立し、野生型マウスと A 欠損マウスにおける、皮膚炎(アトピー性皮膚炎および接触性皮膚炎)に対する感受性について解析を行った。皮膚の肥厚ならび

に炎症性細胞の浸潤について、組織・細胞学的な解析を行った。さらに受容体 A に対する中和抗体を作製し、生体内での機能についても検証を試みた。また、受容体 A の誘導機序についての解析においては、マスト細胞欠損マウスへの骨髄マスト細胞の移入ならびに *in vitro* 共培養系を駆使した誘導機序について解析をした。

4. 研究成果

上述の受容体 A を欠損するマウスを入手し、野生型マウスと受容体 A 欠損マウスとの皮膚疾患への感受性についての比較を行った。アトピー性皮膚炎および接触性皮膚炎に対する感受性について解析を行った結果、アトピー性皮膚炎モデルにおいては両群で特に差が見られなかったものの、接触性皮膚炎モデルマウスにおいては受容体 A 欠損マウスでは重度の皮膚の肥厚ならびに炎症細胞の浸潤が観察された。このことから、受容体 A はアレルギー-IgE を介したマスト細胞の活性化への影響は少なく、danger associated molecule patterns (DAMPs) 等をはじめとした炎症性メディエーターの遊離に関わるマスト細胞の活性化経路の抑制に働いている可能性が示唆された。さらに、皮膚や腸などの生体組織から分取した線維芽細胞を単離し、マスト細胞との共培養解析の結果、皮膚線維芽細胞由来因子が、マスト細胞上の受容体 A の発現を誘導していることが明らかとなった。

受容体 A によるマスト細胞機能制御メカニズムの詳細については解析の余地が残されているものの、新たな皮膚組織特異的なマスト細胞鎮静化機構の存在が明らかとなった。以上のことから、この受容体 A の誘導機構の解明ならびに受容体 A を標的としたマスト細胞の機能制御が新たな皮膚炎の治療法の開発につながることを示された。

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7件)

1. Nakajima-Adachi H., Kikuchi A., Fujimura Y., Shibahara K., Makino T., Goseki-Sone M., Kihara-Fujioka M., Nochi T., Kurashima Y., Igarashi O., Yamamoto M., Kunisawa J., Toda M., Kaminogawa S., Sato R., Kiyono H., and Hachimura S. 「Peyer's patches and mesenteric lymph nodes cooperatively promote enteropathy in a mouse model of food allergy」『**PLoS**

- ONE** 9(10):e107492, 2014
2. Kishida K., Kohyama M., **Kurashima Y.**, Kogure Y., Wang J., Hirayasu K., Suenaga T., Kiyono H., Kunisawa J., and Arase H. 「Negative regulation of DSS-induced experimental colitis by PILRa.」 『Int Immunol.』 2015 (6):307-14. doi: 10.1093/intimm/dxv004. Epub 2015 Feb 20.
 3. Tsai S.H., Kinoshita M., Kusu T., Kayama H., Okumura R., Ikeda K., Shimada Y., Takeda A., Yoshikawa S., Obata-Ninomiya K., **Kurashima Y.**, Sato S., Umemoto E., Kiyono H., Karasuyama H., and Takeda K. 「The ectoenzyme E-NPP3 negatively regulates ATP-dependent chronic allergic responses by basophils and mast cells.」 『Immunity』 ,2015 Feb 17;42(2):279-93. doi: 10.1016/j.immuni.2015.01.015.
 4. **Kurashima Y.**, Kiyono H., and Kunisawa J. 「Pathophysiological role of extracellular purinergic mediators in the control of intestinal inflammation」 『Mediators of Inflammation』 :427125. doi: 10.1155/2015/427125, 2015.
 5. Kunisawa J., Arita M., Hayasaka T., Harada T, Iwamoto R., Nagasawa R., Shikata S., Nagatake T., Suzuki H., Hashimoto E., **Kurashima Y.**, Suzuki Y., Arai H., Setou M., and Kiyono H. 「Dietary ω3 fatty acid exerts anti-allergic effect through the conversion to 17,18-epoxyeicosatetraenoic acid in the gut」 『Scientific Report』 ;5:9750. doi: 10.1038/srep09750, 2015.
 6. Goto Y, **Kurashima Y.**, and Kiyono H. 「The gut microbiota and inflammatory bowel disease.」 『Curr Opin Rheumatol.』 (4):388-96. doi: 10.1097/BOR.000000000000192, 2015
 7. Wakita D., **Kurashima Y.**, Crother T., Rivas M.N., Lee Y., Chen S., Fury W., Bai Y., Wagner S., Li D., Lehman T., Fishbein M., Hoffman H., Shah P., Shimada K., and Arditi M. 「The Role of IL-1 signaling in a mouse model of Kawasaki Disease-associated Abdominal Aortic Aneurysm」 『Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology
- 〔学会発表〕(計 11 件)
1. Akashi-Takamura S., Yamakawa N., Shibata T., **Kurashima Y.**, Kunisawa J., Kiyono H., Suzuki K., Kikuta J., Ishii M., Miyake K. 「MD-1 affects BCR-S1P1 association.」 『第 43 回日本免疫学会学術集会』(京都)2014 年 12 月 (Oral)
 2. Joo S., Fukuyama Y., **Kurashima Y.**, Ziegler S. F., Yuki Y., PARK E.J., Kiyono H. 「Critical role of TSLP-TSLPR interaction in inducing secretory IgA responses after mucosal immunizations.」 『第 43 回日本免疫学会学術集会』(京都)2014 年 12 月 (Oral)
 3. **Kurashima Y.** 「Creation of Skin Mast Cell-Suppressive Milieu by Local Fibroblasts」 『The 8th Aso International Meeting』 (Kumamoto, Japan) May, 2015 (Oral)
 4. Shimokawa C., Kanaya T., Ishiwata K., **Kurashima Y.**, Kiyono H., Kaisho T., Ohno H. 「Resistance to a helminthic infection is dependent on mast cell activation mediated by ATP in Spi-B-deficient mice.」 『第 43 回日本免疫学会学術集会』(京都)2014 年 12 月 (Oral)
 5. Shimokawa C., Kanaya T., Ishiwata K., **Kurashima Y.**, Kiyono H., Kaisho T., Ohno H. 「Resistance to a helminthic infection is dependent on mast cell activation mediated by ATP in Spi-B-deficient mice.」 『第 43 回日本免疫学会学術集会』(京都)2014 年 12 月 (Oral)
 6. 高里良宏、倉島洋介、清野宏 「腸管免疫応答の解析を目的とした新規経口免疫療法マウスモデルの構築」 第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月、東京(poster)
- 【招待講演・シンポジウム】
7. **Kurashima Y.** 「Tissue-specific signals control mast cell function for the maintenance of tissue homeostasis」 『the 1st International Symposium on Mucosal Immunity and Vaccine

- Development 2014**」 2014年10月、東京
8. **Kurashima Y.** 「**Tissue-specific signals control mast cell function for the maintenance of tissue homeostasis**」 『2nd Innocation Summit Chronic Inflammation and Autoimmune Diseases』 2014年10月、東京
 9. **Kurashima Y.** 「Guest Society Symposium: Analysis of a mast cell-suppressive milieu on the body surface for the prevention and treatment of inflammatory diseases」 『The American Association of Immunologists Immunology 2015』 2015年5月、New Orleans, LA, USA
 10. 倉島洋介「レチノイン酸代謝による皮膚マスト細胞の鎮静化」第64回日本アレルギー学会学術大会2015年5月、東京
 11. **Kurashima Y.** 「Elucidation and Regulation of Disease-specific Mast Cell Activations」 『Mini-symposium for Mucosal Immunology and Allergy therapeutics』 2015年12月、千葉

〔図書〕(計8件)

1. 倉島洋介、佐藤健、清野宏、「マスト細胞の組織特異性の獲得と炎症」、『**感染・炎症・免疫**』、 医薬の門社、Vol.45. 1. p10-19, 2015
2. 佐藤健、倉島洋介、國澤純、清野宏、「レチノイン酸代謝による皮膚バリアの恒常性維持 ~線維芽細胞によるマスト細胞調節機構~」、『**臨床免疫・アレルギー科**』、科学評論社、Vol. 63, (2), p139-150, 2015
3. 倉島洋介、高里良宏、小沼義直、清野宏「消化器疾患・感染防御におけるマスト細胞」、『**医学のあゆみ**』、医歯薬出版株式会社、253(5): p397-402, 2015
4. 倉島洋介、小暮優太、福井渉、清野宏「マスト細胞鎮静化と組織恒常性維持」、『**臨床免疫・アレルギー科**』、科学評論社、Vol. 63(6),p551-557, 2015
5. 高里良宏、倉島洋介、清野宏「炎症性腸疾患および大腸がんにおけるマスト細胞のはたらき」、『**臨床免疫・アレルギー科**』、科学評論社、Vol. 64(5), p435-441, 2015

6. 倉島洋介、清野宏「マスト細胞の P2X7 受容体シグナル制御と塩素湯性疾患」、『**臨床免疫・アレルギー科**』、科学評論社、Vol. 64(5), p 447-453, 2015
7. 倉島洋介、清野宏「マスト細胞による炎症の誘導と制御」、『**炎症と免疫**』、先端医学社、Vol. 24(1): p 3-9., 2015
8. Goto, Y., **Kurashima, Y.** and Kiyono, H. 2015 . Roles of the gut mucosal immune system in symbiosis and immunity. Jap. J. Clin. Hematol. (RINSHO-KETSUEKI), Japanese Society of Hematology, 56(10): p 345-352, 2015

〔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
倉島 洋介 (Kurashima, Yosuke)
東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：30729372

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：