

渋谷 彰
筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授

ヒト肥満細胞活性化制御技術の開発によるアレルギー疾患の克服

§1. 研究実施の概要

アレルギー疾患は近年増加の一途を辿っており、その克服は人類の健康・福祉にとって喫緊の課題である。アレルギー疾患の発症は、抗原の感作から始まり、多様で複雑な免疫応答ネットワークを経て、最終的には、生成された抗原特異的な IgE 抗体と抗原との免疫複合体が肥満細胞上に発現する高親和性 IgE 受容体(FcεRI)を架橋することによって、肥満細胞からの脱顆粒が誘導され引き起こされる。我々は、肥満細胞に発現し、細胞質領域に ITIM を有する抑制性受容体である Myeloid-associated immunoglobulin-like receptor (MAIR)-I と Allergy inhibitory receptor (Allergin)-1 を同定し、これらが肥満細胞の活性化を負に制御することを示した。本研究では、MAIR-I と Allergin-1 についてのマウスアレルギーモデルを用いた知見を基盤にして、ヒト肥満細胞活性化制御機構とアレルギー疾患の発症機構の解明を行う。また、アレルギー疾患患者において、これらの抑制性受容体とそれらのリガンドの遺伝子解析を行い、これらのアレルギー発症における臨床病理学的意義を解明するとともに、診断的有用性について明らかにする。

§ 2. 研究実施体制

(1)「筑波大学」グループ(研究機関別)

- ① 研究分担グループ長:渋谷 彰 (筑波大学大学院人間総合科学研究科、教授)
サブグループ長:野口 恵美子(筑波大学大学院人間総合科学研究科、准教授)

② 研究項目

「渋谷」サブグループ

- 花粉症、喘息モデルにおける Allergin-1 の機能の解明
- 樹状細胞やマクロファージに発現する Allergin-1, MAIR-I の機能の解明
- ヒト肥満細胞に発現する Allergin-1, MAIR-I の機能の解明
- ヒト好塩基球における Allergin-1, MAIR-I の機能の解明
- Allergin-1 および MAIR-I のリガンドの同定と機能の解明
- ヒト肥満細胞に発現する新規の抑制性受容体とそのリガンドの同定

ヒト抑制性受容体に対する分子標的療法の開発
「野口」サブグループ
アレルギー疾患患者の抑制性受容体とそのリガンドの遺伝学的解析

§3. 研究実施内容

1) アレルギー疾患における Allergin-1 および MAIR-I の機能の解明

OVA ペプチドおよびハウスダストを抗原とした喘息モデルを Allergin-1 遺伝子欠損マウスで作製し、Allergin-1 および MAIR-I がこれらのアレルギー性疾患を負に制御することを確認する。本年度はこれらの疾患モデルマウスを確立する為に、すでに樹立してある C57BL/6 バックグラウンドの Allergin-1 および MAIR-I 遺伝子欠損マウスを Balb/C バックグラウンドに戻し交配をおこなった。Allergin-1 および MAIR-I は肥満細胞以外にマクロファージや樹状細胞、顆粒球にも発現することから、これらのマウスで生じるアレルギー反応の責任細胞を同定するため、コンディショナル遺伝子欠損マウスの作製に着手した。

また、ヒト肥満細胞の解析の第一歩として、本年度はヒト末梢血あるいは臍帯血から CD34⁺細胞を分離し、SCF、IL-3、IL-6を加えたメチルセロースにて6~8週間培養し、ヒト肥満細胞の安定的持続培養誘導系を確立することができた。今後、これを用いて Allergin-1, MAIR-I のヒト肥満細胞における機能の解析を行う予定である。また新たなヒト肥満細胞の活性化制御分子の探索も行い、ヒトアレルギー疾患における肥満細胞の役割の解明とその制御法の開発に向けた基盤研究を推進する予定である。

2) 抑制性受容体 Allergin-1 および MAIR-I のリガンドの同定と機能の解明

マウス Allergin-1 および MAIR-I の細胞外ドメインの C 末端側に免疫グロブリン Fc 部分を付加した可溶性蛋白を作製し、それぞれのリガンドを免疫沈降し、その候補分子を同定した。これらが生理的なリガンドであるかを解析するために、Allergin-1 または MAIR-I に結合した際のシグナル伝達の有無を解析中である。またヒト Allergin-1 は、マウスと異なり、3つのスプライシングバリエントが存在する。ヒトにおける Allergin-1 のリガンドが一つのみなのか、それぞれのバリエントに対応して複数存在するのかを明らかにする為に、それぞれの細胞外ドメインの C 末端側に免疫グロブリン Fc 部分を付加した可溶性蛋白を作製した。今後、これらを用いてリガンドの同定を行う予定である。

3) アレルギー疾患患者の抑制性受容体とそのリガンドの遺伝学的解析

3)-1. Allergin-1のrare variantの同定

血清中の総IgE濃度が2000IU/ml以上のIgE高値のアレルギー患者88名、5~8IU/mlの低IgE患者50名のDNAを用いて、Allergin-1 1~10の各エクソン領域を増幅するプライマーを作製し、各エクソンの配列のダイレクトシーケンスを行い、遺伝子変異の同定を行った。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Nabekura T, Shibuya K, Shibuya A. Reply to Seth et al.: DNAX accessory molecule-1 (DNAM-1) plays an important role in alloreactive CD8⁺ T cells responsible for the exacerbation of acute graft-versus-host disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108 (10) E34, 2011. DOI: 10.1073/pnas.1005582107