

## 山梨県若手研究者奨励事業費 研究成果概要書

所属機関 山梨大学大学院総合研究部 免疫学講座職名・氏名 講師・中村 勇規

## 1 研究テーマ

概日時計によるアナフィラキシーショック制御機構の解明

## 2 研究の目的

アナフィラキシーショックは食物やハチ、薬物等にアレルギーをもつ患者がそれらのアレルゲンに高度に暴露されたときに、アレルゲンに特異的に結合するIgEを結合したマスト細胞からヒスタミン等の化学物質の過剰放出によって血圧が低下し生命が脅かされる状態である。特に小児においては学校給食における食物アレルギー性のアナフィラキシーショックの発症が社会的に極めて問題となっている。このようなアレルギー性疾患の中で最重症の病態の1つにもかかわらずアナフィラキシーショックの制御機構の理解はここ数十年間ほとんど進歩していない。

我々はアナフィラキシーショックが惹起される時間帯でその重症度に違いがあること(活動期に惹起されると弱く、休息期には強い)、また時計遺伝子Per2変異マウスやSCN破壊マウスではこのアナフィラキシーショックの日内変動が消失することを見出している。これらの結果は、概日時計がアナフィラキシーショックを制御するしくみの1つであることを示唆している。しかしながら、これらの結果は実際のヒトにおけるアナフィラキシーショックとは異なる(IgEを受動的に投与して各時間にアレルゲンを投与して惹起したマウスモデル)ことなどを考えると、概日時計がアナフィラキシーショックを制御するしくみの詳細は未だ不明な点が多い。

以上の背景から、本研究では概日時計によるアナフィラキシーショックの時間依存的な制御のしくみを解明し、その新知見をアナフィラキシーショックの予防/治療へと結びつけることを目指す。アナフィラキシーショックではIgE刺激によるマスト細胞の活性化反応が重要な役割を果たしていることから、特にマスト細胞の概日時計がアナフィラキシーショックの時間依存的な制御に果たす役割およびその制御のメカニズムについて主として解析する。

## 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

### 3 研究の方法

マウス骨髄細胞由来培養マスト細胞(BMMC<sub>s</sub>)を作成し、培養開始から6、18時間後のBMMC<sub>s</sub>からmRNAを抽出し、マイクロアレイ法を用いて網羅的にアナフィラキシーショックに関連する遺伝子発現傾向を解析した。

さらに、卵白アルブミン(OVA)で感作したマウス(卵白アレルギーのマウスモデル)の腹腔マスト細胞上におけるIgE結合量を経時的に測定した。加えて、この概日リズム性発現が実際に症状とリンクするか否かを、上記のモデルマウスにOVAを全身投与し、経時的にアナフィラキシーショックを引き起こし症状発現に概日リズムがあるか否かを解析した。

### 4 研究の成果

マイクロアレイ法を用いて網羅的にアナフィラキシーショックに関連する遺伝子発現傾向を解析した結果、アナフィラキシーショックと関連する遺伝子としてIgE受容体(FcεR1)の発現量に概日リズムが確認できた。さらに、卵白アルブミン(OVA)で感作(卵白アレルギーのマウスモデル)したマウスの腹腔マスト細胞上におけるIgE結合量にも概日リズムがあることが確認できた。

さらに、このFcεR1の概日リズム性発現とアナフィラキシーショックの症状増悪時間が一致するか否かを検討した結果、腹腔マスト細胞上のIgE結合量と相関することが明らかとなった。

以上の結果から、マスト細胞の概日時計がアナフィラキシーショックの時間依存的な制御に果たす役割の一つとして、IgE受容体の概日リズム性発現変動であることが卵白アレルギーモデルで明らかとなった。我々はこれまでに受動型のアレルギーモデルマウスを用いた実験でFcεR1の概日リズム性発現に依存することを明らかにしてきたが、本研究ではさらに臨床のアナフィラキシーショックに近いモデルを用いても同様にFcεR1の概日リズム性発現に依存することを確認できた。

### 5 今後の展望

本研究では卵白アレルギーを有するマウスにおけるマスト細胞の概日時計の役割の一部を明らかにできた。しかしながら、マスト細胞欠損マウスを用いていないこと、概日時計を何らかの方法を用いてコントロールし症状が緩和・増悪するか否かについての検討を行っていないこと等を考えると、さらなる検討を行いデータの補強が必要であると考えられる。

#### 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

## 6 研究成果の発信方法（予定を含む）

必要な実験を追加し、2018年度内に海外英文雑誌等に投稿する予定である。また、論文が公表され次第、プレスリリースを新聞各社に行い一般の方々にも情報を発信する予定である。

### 留意事項

- ① 3枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。