炎症制御における肥満細胞の役割

山崎愛理沙, 中村 達朗, 大森 啓介, 村田 幸久

要約: 肥満細胞は免疫細胞の1つであり、顆粒を大量に含むその形態学的特徴からこの名がつけられた。この細胞は、ヒスタミンなどの炎症性物質を大量に放出(脱顆粒)することで、アレルギー性疾患の発症に関わる主な免疫細胞として長らく認識されてきた。しかし、近年研究が進み、肥満細胞は脱顆粒後に起こる種々のサイトカインやケモカイン産生・放出を通して、アレルギー性疾患以外の様々な疾患の発症や進行にも関与することが分かってきた。我々の研究室では、現在アレルギー疾患の他、創傷治癒、急性炎症、がんの発症や進行において、この肥満細胞が果たす役割の解析を進めている。特に肥満細胞が脱顆粒後に大量に産生する脂質メディエーターであるプロスタグランジン D₂ の役割について焦点をあてて研究を進めてきた。本稿ではその一部を紹介したい。

1. はじめに

肥満細胞は1878年にPaul Ehrlichにより、細胞内顆粒がアニリン色素に対して特異的な染色性を示す細胞として、その存在が報告された。現在、肥満細胞はIgEに高親和性を示す受容体であるFcεRIと幹細胞因子(SCF)の受容体であるc-kitの両方を発現し、トルイジンブルー染色に異染色性を示す細胞として認識されている。肥満細胞は骨髓の造血幹細胞から未成熟な状態で血液中に放出され、浸潤した末梢組織において分化・成熟し(1)、類円形あるいは紡錘形をした顆粒を含む細胞として観察することができる。肥満細胞は抗原などの刺激により活性化されると、顆粒中に貯蓄された血管作用性アミンであるヒスタミンや、トリプターゼやキマーゼなどのプロテアーゼ、プロテオグリカンのヘパリンなどを放出する。続いて、各合成酵素依存的にプロスタグランジン D₂ (PGD₂) やロイコト

リエンのような脂質メディエーターを *de novo* 合成して分泌する。その後さらに、VEGFやIL-6, TNF-αといった成長因子やサイトカイン、ケモカインを産生・分泌する(2)。

生理・病理反応における肥満細胞の役割の解明は、肥満細胞を欠損する突然変異マウスが発見されたことを機に、大きく進んだ。現在、肥満細胞の分化と増殖に重要なSCFの受容体であるc-kit遺伝子に変異が入ったKit^{W/W^v}マウスとKit^{W^{sh}/W^{sh}}マウスの2系統が多くの実験に用いられている。これらのマウスを研究に用いることで、肥満細胞は、①ヒスタミンを放出し、全身性のアナフィラキシーを悪化させる(3)、②細菌などの感染初期において、宿主を守る保護的な働きをする(4)、③悪性黒色腫において、その増殖を促進するような働きを持つ(5)、ことなどが証明されてきた。

生理活性物質であるPGD₂は1973年にHambergらによって同定されたPGの1つである(6)。PGD₂の合成酵素には、主に中枢神経系において発現するリポカリン型PGD合成酵素(L-PGDS)と、主に肥満細胞に発現する造血器型PGD合成酵素(H-PGDS)が存在する。前者L-PGDSが産生するPGD₂は睡眠誘発作用を持つことが報告されている一方で(7)、後者H-PGDSが産生するPGD₂の生理作用については明らかにされていない。

そこで、我々の研究室では種々の病態モデルを用いて、「肥満細胞のH-PGDSから産生されるPGD₂がもつ生理作用」を解析してきた。以下に各成果について概説する。

2. 肥満細胞由来のPGD₂は腸炎と腸炎関連がんを抑える

遺伝的要因や、喫煙や飲酒といった生活習慣により

キーワード: 肥満細胞, 脂質, 炎症, アレルギー

東京大学大学院 農学生命科学研究科 放射線動物科学研究室 (〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1)

E-mail: amurata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp 原稿受領日: 2017年1月17日, 依頼原稿

Title: The role of mast cell in inflammation Author: Arisa Yamazaki, Tatsuro Nakamura, Keisuke Omori, Takahisa Murata

起こる大腸炎が遷延化すると、大腸がんの発症につながる事が知られている。世界では年間約 600 万人がこのがんを原因に死亡しており、その患者数は増加し続けている。日本国内でも、最も多く発症するがんの1つとして認識されている。炎症メディエーターである PG 類、特に PGE_2 や PGI_2 は、各合成酵素や受容体の遺伝子欠損マウスを用いた検討により、大腸炎や大腸がんを促進する因子であることが報告されている(8)。一方でこれらの疾患における PGD_2 の病態生理学的な役割は分かっていなかった。

野生型 (WT) マウスに発がん物質であるアゾキシメタンを腹腔内投与したのち、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を連続経口投与すると大腸炎に続き、42 日後には大腸にポリープの形成が観察された。H-PGDS 遺伝子欠損マウスでは、この大腸炎が悪化し、その後のポリープ形成数が有意に増加した。H-PGDS 遺伝子欠損マウスの大腸組織において、上皮細胞の発がんに関与するとされる $\text{TNF-}\alpha$ の有意な発現上昇が観察され、 $\text{TNF-}\alpha$ 受容体の阻害薬の連日投与は、大腸炎とポリープの形成を抑制した。組織学的解析を行ったところ、炎症を起こした大腸組織、特にポリープの周囲に多くの肥満細胞が浸潤しており、これらの肥満細胞が H-PGDS を強く発現していることが分かった。次に肥満細胞を先天的に欠損するマウス ($\text{Kit}^{\text{W-sh/W-sh}}$) へ WT と H-PGDS 遺伝子欠損マウスの骨髓から分化させた肥満細胞を移植することで、肥満細胞特異的に H-PGDS を欠損したマウスを作製し、実験に用いた。その結果、肥満細胞特異的 H-PGDS 遺伝子欠損マウスにおいて、大腸炎が悪化し、ポリープ形成が促進されることが分かった。さらに、 PGD_2 受容体 (DP) 作動

薬の連日投与は、大腸炎とポリープ形成を有意に抑制することも明らかとなった。

以上の結果より、肥満細胞由来の PGD_2 は $\text{TNF-}\alpha$ 産生を抑制することで、大腸炎や腸炎関連大腸がんの発症を抑制することが証明された (図 1 上)。

3. 肥満細胞由来の PGD_2 はがん血管新生を抑制する

がんは周囲の組織から血管を新生させることで、その増殖に必要な酸素や栄養を獲得する。このがん血管新生はがん細胞自身のみならず、がん組織に浸潤したマクロファージやリンパ球、さらには肥満細胞によって誘因されることがわかっている。そこで我々は、がん組織に浸潤している肥満細胞と PGD_2 が、がんの血管新生や増殖に与える影響を評価した。

WT マウスと H-PGDS 遺伝子欠損マウスの皮下にルイス肺がん細胞を移植すると、H-PGDS 遺伝子欠損マウスのがん組織において増殖が速く、それは $\text{TNF-}\alpha$ 産生増加による血管新生の亢進によるものだった。WT マウスのがん組織において、肥満細胞は H-PGDS と、血管新生促進因子である $\text{TNF-}\alpha$ を強く発現していた。先の項目と同様に、肥満細胞特異的 H-PGDS 遺伝子欠損マウスを作成し移植したがんでは、WT マウスから分化させた肥満細胞を移植した $\text{Kit}^{\text{W-sh/W-sh}}$ マウスのがんと比較して、増殖が速く、血管新生の亢進と $\text{TNF-}\alpha$ の強い発現が見られた。

以上の結果より、がん浸潤している肥満細胞は PGD_2 を産生し、肥満細胞自身の産生する $\text{TNF-}\alpha$ の発現を抑制することで血管新生とその増殖を抑制する働きをすることが分かり、将来的にがん治療の新しい標的

図1 肥満細胞由来の PGD_2 が、腸炎や発がん、がんの増殖、アレルギーに与える影響

として用いることができる可能性を示した (図1 左下).

4. 肥満細胞由来の PGD_2 は食物アレルギーの症状を抑える

食物アレルギーは、本来は栄養源となるはずの食物を摂取することでじんましんや下痢を発症するアレルギー性疾患であり、時に呼吸困難や意識低下などの重篤な症状 (アナフィラキシー) を呈す。我々は、アレルゲンを連続的に経口投与することで下痢症状を引き起こすアレルギー性腸炎モデルおよびアレルゲンを直接皮下や静脈内に投与するアナフィラキシーモデルを作製して PGD_2 の役割を検討した。

H-PGDS 遺伝子欠損は、アレルギー性腸炎モデルマウスの腸管において肥満細胞の数を劇的に増加し腸炎症状を増悪させた。先の項目と同様に作成した肥満細胞特異的 H-PGDS 欠損マウスでも、同様に肥満細胞数が増加してアレルギー症状が悪化した。単離肥満細胞を用いた検討から、H-PGDS 遺伝子欠損は肥満細胞の前駆細胞を遊走させる因子である間質細胞由来因子 (SDF-1) の産生量を増加させることがわかり、この受容体阻害はアレルギー症状の増悪をほぼ完全に抑制した(9)。さらに、アナフィラキシーモデルにおいても H-PGDS 欠損は、その症状である血管透過性の亢進や血圧・体温低下を悪化させた。Cre/loxP システムを用いて作製した肥満細胞特異的 H-PGDS 欠損マウスでも同様にアナフィラキシー症状が悪化した。

以上2つの病態モデルを用いた検討から、肥満細胞から放出される PGD_2 はアレルギー性疾患においてもその悪化にブレーキをかける“炎症抑制物質”であることが明らかになった (図1 右下)。さらに現在我々は、 PGD_2 の抑制シグナルを外因的に強化するとこれら病態が改善する知見も得ている。今後、その治療応用が期待される。

5. ヒスタミンによる血管透過性亢進メカニズム

肥満細胞の脱顆粒によって大量に放出されたヒスタミンは、末梢組織の血管透過性を亢進することで血圧

や体温の急激な低下を引き起こし、アレルギー症状を呈する。その機構として、ヒスタミンは血管内側に位置する血管内皮細胞のバリアを破綻させることがこれまでの研究で明らかとなっているが、生体内におけるその詳細な機構は解明されていない。我々は、共焦点蛍光顕微鏡を用いた *in vivo* イメージングによって、ヒスタミンの血管透過性制御機構を経時的に観察した。マウスの耳介にヒスタミンを処置すると、動静脈が弛緩して組織血流量が増大し、静脈投与した蛍光色素が間質へと漏出した。またヒスタミンによる動静脈弛緩と色素漏出は、ヒスタミン受容体 H_1 の阻害薬であるジフェンヒドラミンや、NO 合成阻害薬の L-NAME、血管平滑筋を収縮させるフェニレフリンの前処置によりほぼ完全に抑制された。以上の結果より、ヒスタミンは H_1 受容体を介して NO 産生を促し、血管弛緩と血流量増大を引き起こして生体内における血管透過性を亢進していることが明らかとなった(10)。

本研究は生体内の血管透過性が、血管内皮細胞バリアによってだけでなく、組織血流量によっても制御されていることを明らかにした報告である (図2)。またヒスタミンによる血管弛緩と組織血流量の増大がアレルギー発症の引き金となることも示し、肥満細胞の病態生理作用に新たな知見をもたらすものである。

6. 終わりに

以上のように、我々は肥満細胞が産生する PGD_2 が肥満細胞自身の活性や血管透過性を抑えるブレーキとして働いていることを明らかにしてきた。先に記述したように、ヒスタミンを大量放出することで炎症を惹起する肥満細胞が、炎症抑制物質をも放出することを証明してきた。今後その生物学的意義の解明を進めていきたい。肥満細胞は、その強力な生理作用とは裏腹に、組織に存在する数が比較的少なく、マクロファージや好中球などといった免疫細胞と比較して、その機能の解明が進んでいるとは言い難い。近年、c-kit 遺伝子に非依存性に肥満細胞を欠損させたモデルも開発されている(11)。これらを駆使することで、どのような

図2 ヒスタミンによる血管透過性亢進メカニズム

生理反応や疾患に，肥満細胞がどう影響を与えているのか，を引き続き解明していきたい。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 田中智之. 生化学. 2010;82:1021-1031.
- 2) Marichal T, et al. Cancer Immunol Res. 2013;1:269-279.
- 3) Jacoby W, et al. J Invest Dermatol. 1984;83:302-304.
- 4) Echtenacher B, et al. Nature. 1990;381:75-77.
- 5) Schitteck A, et al. J Surg Res. 1985;38:24-28.
- 6) Hamberg M, et al. Biochim Biophys Acta. 1976;431:189-193.
- 7) Ueno R, et al. Trends Mol Med. 2006;12:148-158.
- 8) Doherty GA, et al. BMC Cancer. 2009;9:207.
- 9) Nakamura T, et al. Nat Commun. 2015;10:6:7514.
- 10) Ashina K, et al. PLoS One. 2015;10:e0132367.
- 11) Reber LL, et al. Mucosal Immunol. 2015;2:1-20.