

研究課題名	可溶型 ST2 に着目した食物アレルギーの病態解明と予防・治療法開発		
フリガナ	キタウラ ジロウ		
代表者名	北浦 次郎		
所属機関 (機関名) (役職名)	順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター 教授		
共同研究者	氏 名 (フリガナ)	所属機関・役職名	役割分担
	中江 進 (ナカエ ススム)	広島大学大学院統合生命科学研究科・教授	マウス実験の解析 IL-33 の生体内機能を解析するため
本助成金による 発表論文, 学会発表	小嶋まゆき、安藤智暁、伊沢久未、前田啓子、貝谷綾子、大石賢司、山田啓迪、稲毛英介、工藤孝広、前原明絵、中野信浩、大塚宜一、奥村康、清水俊明、北浦次郎：食物アレルギーにおける可溶型 ST2 の生理的役割、第 72 回日本アレルギー学会学術大会、東京国際フォーラム (東京)、2023 年 10 月 20-22 日 北浦次郎：食物アレルギーとマスト細胞、第 96 回日本生化学会大会 シンポジウム「マスト細胞研究が切り拓く細胞制御機構のニューフロンティア」、福岡国際会議場 (福岡)、2023 年 11 月 2 日		

研究結果要約

IL-33 受容体の可溶型 ST2 (sST2) だけを発現しない sST2 欠損マウスを作製し、食物アレルギーにおける sST2 の生理的役割を解析した。マウスを卵白アルブミン (OVA) で腹腔感作した後、OVA を経胃管投与したところ、野生型マウスと比較して sST2 欠損マウスの食物アレルギー症状 (下痢) は悪化し、sST2 欠損マウスの空腸組織ではマスト細胞の増加や脱顆粒が亢進した。一方、両者の OVA 特異的 IgE 値に差はなかった。IL-33 の刺激は (IgE と抗原による) 骨髄由来マスト細胞の脱顆粒や IL-9 産生粘膜型マスト細胞の誘導を促進することを確認した。他方、sST2 を模倣する ST2-Fc の投与はマスト細胞の脱顆粒や IL-9 産生粘膜型マスト細胞の誘導を抑制した。さらに、ST2-Fc の前投与は sST2 欠損マウスの食物アレルギーを緩和した。従って、内因性 sST2 は、IL-33 シグナルを減弱させて空腸マスト細胞の増加と脱顆粒を抑制し、食物アレルギーを抑えらるゝと考えられた。また、非血球系細胞と血球系細胞がほぼ半々で (定常状態で高値を示す) 血清 sST2 の産生を担うこと、中でも皮膚線維芽細胞が恒常的に大量の sST2 を放出すること、食物アレルギーの皮膚組織で増加する IL-4 や IL-13 が皮膚線維芽細胞の sST2 産生を増加させることが判明した。今後、IL-33 を標的とする食物アレルギーの予防・治療法開発が期待される。

研究目的

近年、食物アレルギーは大きな医療・社会問題になっている。その対策は急務であるが、安全で有効な予防・治療法を開発するには食物アレルギーの病態を深く理解する必要がある。

多くの食物アレルギーは IgE 依存的な即時型アレルギーである。食物抗原が何らかのルートで体内に侵入し、抗原特異的 IgE が産生される。抗原特異的 IgE は全身組織のマスト細胞の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) に結合する。その後、同じ食物を経口摂取すると、小腸で食物抗原が特異的 IgE に結合してマスト細胞の高親和性 IgE 受容体を架橋刺激する。その結果、小腸マスト細胞は活性化して細胞内顆粒を放出 (脱顆粒) し、炎症惹起分子が食物アレルギー症状 (下痢など) を引き起こす。また、食物抗原の摂取は 2 型炎症を促進し、小腸マスト細胞を増加させる。従って、小腸マスト細胞の増加と脱顆粒を制御することは食物アレルギー対策の鍵を握る^{1)~3)}。

IL-33 は IL-1 ファミリーサイトカインであり、アレルギー疾患で重要な役割を演じる。IL-33 の受容体として膜型 ST2 (ST2L) があり、alternative splicing form として可溶型 ST2 (sST2) が存在する。ST2L は多くの免疫細胞 (マスト細胞など) に発現する。IL-33 が ST2L に結合すると、ST2L と IL-1RAcP は 2 量体を形成して細胞内にシグナルを伝達する。他方、sST2 は IL-33 に結合して ST2L のデコイ受容体として作用すると想定されている。また、血清 sST2 値は多くのアレルギー疾患で上昇することが報告されている。しかし、アレルギー疾患 (食物アレル

ギーを含む) の病態形成における内因性 sST2 の生理的な役割は不明である^{4)~6)}。この課題を克服するため、申請者は、ゲノム編集技術により sST2 欠損 (ST2L を発現するが sST2 だけを欠損する) マウスを作製した。野生型と sST2 欠損マウスの食物アレルギーモデルを比較解析することにより、内因性 sST2 の生理的な役割を解明することが可能になる

一方、IL-33trap (ST2L の細胞外領域と IL-1AcP の細胞外領域の融合タンパク質) が効率よく IL-33/ST2L シグナルを抑制すると最近報告された⁷⁾。これまでの研究結果を基礎とし、申請者は、IL-33/ST2L シグナルをより効率よく抑制する分子を作製し、その投与が食物アレルギーの予防・治療に有効であるか否かを明らかにする。

本研究の目的は、IL-33/ST2L シグナルと sST2 に着目し、食物アレルギーの病態形成における内因性 sST2 の役割を明らかにすることである。さらに、IL-33/ST2L シグナルを効率よく抑制する分子を開発し、病態機序に基づく食物アレルギーの予防・治療法を確立することである。

研究計画及び研究手法

① WT と sST2-KO マウスに腹腔感作による食物アレルギーを誘導して解析した。

最初に、WT、(sST2 を欠損するが ST2L を発現する) sST2-KO、(ST2L と sST2 を共に欠損する) ST2-KO マウスの定常状態における血清 sST2 値を ELISA で測定した。骨髄の RNA を抽出し、ST2L や sST2 の mRNA 発現量を real time PCR で解析した。骨髄を採取し、IL-3 存在下で

骨髄由来マスト細胞 (BMMC) を誘導した。腹腔洗浄液から腹腔マスト細胞 (PMC) を分離した。皮膚組織から線維芽細胞を分離した。BMMC、PMC、皮膚線維芽細胞を ST2 抗体で染色し、ST2L の細胞表面発現量を flow cytometry で解析した。BMMC、PMC、皮膚の線維芽細胞が恒常的に産生する sST2 量を ELISA で測定した。

オボアルブミン (OVA) をアジュバント (Alum) とともに腹腔投与 (2 週間間隔で計 2 回) した後、OVA を経胃管投与 (隔日で計 6 回のチャレンジ) し、食物アレルギー症状である下痢の頻度を計測した。OVA の経胃管投与前と最終投与後の血清を採取し、総 IgE 値、OVA 特異的 IgE 値や sST2 値を ELISA で測定した。OVA を最終投与した後に空腸を採取し、トルイジンブルー染色により空腸マスト細胞数を測定した。空腸組織から分離した細胞を各種抗体で染色した後、flow cytometry で解析し空腸におけるマスト細胞、MMC9、CD4⁺T 細胞、ILC2 などの比率・数を測定した。空腸組織から RNA を抽出し、空腸組織における Th2 サイトカイン (IL-4、IL-5、IL-13、IL-9 など) や粘膜型マスト細胞のプロテアーゼである MCPT1 の mRNA 発現量を real time PCR で解析した。また、OVA チャレンジ前後の空腸組織を IL-33 抗体で染色した。また、空腸組織の IL-33 の mRNA 発現量を real time PCR で解析した。OVA チャレンジ後の皮膚組織の IL-4 や IL-13 量を ELISA で測定した。

② WT と sST2-KO マウスに経皮感作による食物アレルギーを誘導して解析した。

剃毛したマウスの背部皮膚に tape-stripping をして OVA を塗布 (1 週間に 1 回で計 4 週間) した後、OVA の経胃管投与 (隔日で計 6 回のチャレンジ) を行い、食物アレルギー症状である下痢の頻度を計測した。①と②で sST2 欠損は感作相に影響を及ぼさず、OVA の経胃管投与後のエフェクター相に影響することが判明したので、以後、腹腔感作後の食物アレルギーを詳細に解析することにし、OVA と黄色ブドウ球菌毒素 SEB を経胃管投与 (1 週間に 1 回で計 6 回のチャレンジ) することで誘導する食物アレルギーの解析を行わなかった。

③ 適宜、他の遺伝子改変マウス (ST2-KO マウスやマスト細胞欠損マウスなど) に対して腹腔感作後の食物アレルギーを誘導して比較解析した (①と同様)。

④ 放射線照射と骨髄移植により WT と sST2-KO マウスのキメラを作製し、4 種類のキメラマウスの食物アレルギーを解析した。

WT と sST2-KO マウスに放射線照射 (9.0 Gy) した後、それぞれに WT あるいは sST2-KO マウス由来の骨髄を静脈注射してキメラマウスを作製した。4 週間後に、腹腔感作 (2 週間間隔で計 2 回) した後、OVA を経胃管投与して食物アレルギーを誘導した。腹腔感作前、OVA チャレンジ後の血清を採取して、血清 sST2 値を ELISA で測定した。①と同様に下痢頻度を測定するとともに、OVA チャレンジ後の直腸温も測定した。

⑤ 上記マウス由来の各種細胞 (マスト細胞、線

維芽細胞など) を IgE/抗原や IL-33 など刺激したときの脱顆粒率 (マスト細胞)、サイトカインや sST2 の産生量 (ELISA)、細胞の分化・増殖 (flow cytometry) などを解析した。

WT、sST2-KO、ST2-KO マウス由来 BMMC を IL-33 で刺激したときの脱顆粒率の測定 (β ヘキソサミニダーゼアッセイ) やサイトカイン (IL-6、TNF- α) 産生量の測定 (ELISA) を行った。

また、IL-33 の存在下・非存在下で BMMC を抗 TNP IgE と抗原 (TNP-HSA) で刺激したときの脱顆粒率、サイトカイン産生量、sST2 産生量を測定した。次に、皮膚由来線維芽細胞を IL-33 で刺激したときの IL-6、MIP-2、sST2 の産生量を ELISA で測定した。

CHO 細胞株あるいは DLL-1 を強発現させた CHO 細胞株と共に WT あるいは sST2-KO マウス由来骨髄細胞を IL-3/SCF 存在下で 9 日間培養し、その後、IL-3/SCF/IL-4/IL-33 存在下で 3 日間培養して IL-9 産生粘膜型細胞 (MMC9) 様細胞を誘導した。MMC9 様細胞数と培養上清中の sST2 を測定した。

⑥ IL-33/ST2L シグナルの抑制分子を作製し、BMMC や MMC9 様細胞に対する作用や食物アレルギーに対する予防・治療効果を解析した。

ST2L の細胞外領域と IgG-Fc の融合タンパク質 (ST2-Fc) や ST2L と IL-1RAcP の細胞外領域と IgG-Fc の融合タンパク質 (IL-33trap-Fc) を作製した。腹腔感作後の食物アレルギーモデルにおいて、OVA チャレンジ前に ST2-Fc あるいはコントロール Fc を投与したときの食物アレルギー

の程度を比較した。ST2-Fc、IL-33Trap-Fc、Fc の投与が IL-33 に対する BMMC の応答性や MMC9 様細胞の誘導に及ぼす作用を比較した。

結果と考察

① 定常状態における WT、sST2-KO、ST2-KO マウスの血清 sST2 を測定したところ、WT マウスでは約 40 ng/mL の高い sST2 が検出されたが、sST2-KO 及び ST2-KO マウスの血清 sST2 は検出感度以下であった。Real time PCR により WT 及び sST2-KO マウスの骨髄には同程度の ST2L の発現が mRNA レベルで確認されたが、ST2-KO マウスの骨髄では検出感度以下であった。WT マウスの骨髄で sST2 の発現は mRNA レベルで確認されたが、sST2-KO 及び ST2-KO マウスの骨髄では検出感度以下であった。また、flow cytometry の解析から WT 及び sST2-KO マウス由来のマスト細胞 (BMMC や PMC) の表面には同程度の ST2L の発現が確認されたが、ST2-KO マウス由来のマスト細胞の表面には発現が認められなかった。従って、sST2-KO マウスは膜型 ST2 (ST2L) を正常に発現するが可溶型 ST2 (sST2) だけを発現しないこと、ST2-KO マウスは ST2L と sST2 を共に発現しないことが確認された。

また、定常状態のマウスの BMMC や皮膚線維芽細胞を解析すると、WT マウス由来の BMMC や皮膚線維芽細胞は sST2 を恒常的に産生するが、sST2-KO や ST2-KO マウス由来の皮膚線維芽細胞は sST2 を産生しないこ

とが確認された。興味深いことに、BMMC と比較して皮膚線維芽細胞が恒常的に産生する sST2 量は極めて多かった (BMMC の上清中 sST2 濃度は < 1 ng/mL に対して、皮膚線維芽細胞の上清中 sST2 濃度は 400 - 500 ng/mL であった)。また、WT と sST2-KO マウス由来の皮膚線維芽細胞表面にはわずかに ST2L の発現が認められたが、そのレベルに差はなかった。ST2-KO マウス由来の皮膚線維芽細胞表面に ST2L の発現は認められなかった。

次に、WT と sST2-KO マウスに対して OVA を腹腔感作した後、OVA を経胃管投与して食物アレルギーを誘導した。OVA の経胃管投与前の OVA 特異的 IgE 値は両者で差がなく、OVA チャレンジ後の OVA 特異的 IgE 値も両者で有意な差は認められなかった。従って、sST2 の有無は感作相には影響を及ぼさないと考えられた。しかし、野生型マウスと比較して sST2-KO マウスでは OVA チャレンジ後の下痢はより早期に多く認められた。また、OVA チャレンジ後のマウスの空腸組織を解析すると、sST2-KO マウスではマスト細胞の数が多く、その脱顆粒率も高いことが判明した。さらに、OVA チャレンジ後の sST2-KO マウスの空腸組織では MMC9 や CD4⁺T 細胞が多く、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-5、IL-13、IL-9 など) や粘膜型マスト細胞のプロテアーゼである MCPT-1 の発現量も mRNA レベルで多いことが示された。OVA チャレンジの sST2-KO マウスの皮膚でも IL-4 や IL-13 などの産生亢進が認められた。他方、OVA チ

ャレンジを繰り返すことにより空腸組織の IL-33 の発現がタンパク及び mRNA レベルで上昇することが示された。また、野生型マウスでは OVA チャレンジにより血清 sST2 値が 40% 程度上昇することが示された。これらの結果から、腹腔感作後の食物アレルギーモデルで sST2 が欠損すると、OVA チャレンジ後の空腸マウス細胞の増加と (OVA と特異的 IgE による) 空腸マスト細胞の脱顆粒が亢進し、食物アレルギーが悪化すること、また、空腸及び遠隔の皮膚でも type 2 炎症が誘導されていることが示唆された。

- ② tape-stripping した皮膚に OVA を塗布して WT と sST2-KO マウスを経皮感作した後、OVA を経胃管投与して食物アレルギーを誘導した場合も、①と同様の結果が得られた。sST2 の有無は血清の OVA 特異的 IgE 値に影響しなかったが、WT マウスと比較して sST2-KO マウスでは下痢の頻度が多く、空腸マスト細胞数の増加や脱顆粒が亢進する傾向がみとめられた。①の結果と合わせて、これらの結果は、内因性 sST2 が食物アレルギーの病態形成における感作相ではなくエフェクター相を抑えることを示唆した。
- ③ 野生型マウスとマスト細胞欠損マウスの血清 sST2 値を比較すると、後者の血清 sST2 値は前者より約 10% 程度低いことが示された。従って、恒常的に sST2 を産生する細胞の中でマスト細胞が果たす役割は菓 10% 程度であ

ると考えられた。WT と ST2-KO マウスに腹腔感作後の食物アレルギーを誘導すると、両者の血清 OVA 特異的 IgE 値に有意な差はないが、WT マウスと比較して ST2-KO マウスの下痢頻度は少なく、また、空腸マスト細胞の増加は少なく脱顆粒率も低い傾向が認められた。従って、IL-33/ST2L シグナルは食物アレルギーのエフェクター相に寄与することが確認された。

- ④ WT と sST2-KO マウスに放射線照射した後、WT あるいは sST2-KO マウスの骨髄を静脈注射し、4 週間後のキメラマウスの血清 sST2 値を測定した結果、WT マウスの骨髄を放射線照射した WT マウスに静脈注射したキメラマウス (WT→WT) の血清 sST2 値が最も高く、キメラマウス (sST2-KO→WT) 及び (WT→sST2-KO) sST2 値はキメラマウス (WT→WT) の約 50%程度であった。キメラマウス (sST2-KO→sST2-KO) の血清 sST2 値は検出感度以下であった。従って、放射線感受性の血球系細胞と放射線非感受性の非血球系細胞がほぼ 1 対 1 の比率で定常状態のマウスの sST2 産生を担っていると考えられた。これらのキメラマウスに腹腔感作後の食物アレルギーを誘導した結果、下痢の頻度は (sST2-KO→sST2-KO) > (WT→sST2-KO) = (sST2-KO→WT) > (WT→WT) の順に多かった。また、OVA チャレンジ後の直腸温の低下も (sST2-KO→sST2-KO) > (WT→sST2-KO) = (sST2-KO→WT) > (WT→WT) の順に

大きかった。つまり、血清 sST2 濃度と反比例して食物アレルギーの症状は悪くまることが示された。一方、キメラマウス (WT→WT) と (sST2-KO→WT) では OVA チャレンジ後に血清 sST2 値は増加したが、キメラマウス (WT→sST2-KO) ではその上昇がほとんど認められなかった。従って、OVA チャレンジ後に増加する血清 sST2 は主に非血球系細胞に由来すると考えられた。

- ⑤ WT、sST2-KO、ST2-KO マウス由来の BMMC を IL-33 で刺激したとき、どの BMMC も脱顆粒はしないが、WT 及び sST2-KO マウス由来の BMMC は同程度のサイトカイン (IL-6 や TNF- α) を産生した。次に、IgE と抗原で Fc ϵ RI を刺激したとき、これらの BMMC の脱顆粒率やサイトカイン産生は同定度であった。同時に、IL-33 も添加すると、WT 及び sST2-KO マウス由来の BMMC の脱顆粒やサイトカイン産生は増加するが、その程度は両者で差がなかった。一方、IL-33 の添加は ST2-KO マウス由来の BMMC の脱顆粒やサイトカイン産生に影響しなかった。また、WT マウス由来の BMMC は IL-33 あるいは IgE/抗原の刺激により sST2 を産生し、両者の刺激によりさらに多くの sST2 を産生するが、その程度は皮膚線維芽細胞が恒常的に産生する sST2 量の 1/10 以下であった。次に、皮膚線維芽細胞を IL-33 で刺激すると、WT 及び sST2-KO マウス由来の皮膚線維芽細胞では IL-6 や MIP2 の産生が認められたが、その産

生量は WT と比較して sST2-KO マウス由来の皮膚線維芽細胞で多かった。ST2 マウス由来の皮膚線維芽細胞は IL-33 の刺激により IL-6 や MIP2 を産生しなかった。また、IL-33 の刺激は WT マウス由来の皮膚線維芽細胞の sST2 産生を増加させなかった。さらに、WT マウス由来の BMMC や皮膚線維芽細胞の培養上清を WT マウス由来の BMMC に添加して IL-33 で刺激したところ、皮膚線維芽細胞の培養上清のみが IL-33 刺激による BMMC の TNF- α 産生を抑制した。また、IL-4 や IL-13 は皮膚線維芽細胞の sST2 産生量を増加させることが確認された。これらの結果から、IgE/抗原や IL-33 の刺激による BMMC の脱顆粒やサイトカイン産生は (BMMC の産生する) sST2 の影響を受けないが、IL-33 刺激による皮膚線維芽細胞のサイトカイン・ケモカイン産生は線維芽細胞の産生する大量の sST2 により抑制されると考えられた。また、腹腔感作後の食物アレルギーの WT マウスの皮膚で増加する IL-4 や IL-13 は非血球系細胞の線維芽細胞の sST2 産生を増強することも示唆された。

CHO 細胞株あるいは DLL-1 を強発現させた CHO 細胞株と共に WT あるいは sST2-KO マウス由来骨髄細胞を IL-3/SCF 存在下で 9 日間培養し、さらに、IL-3/SCF/IL-4/IL-33 存在下で 3 日間培養したところ、DLL-1 を強発現させた CHO 細胞株と共に骨髄細胞を培養したときに MMC9 様細胞が強く誘導された。しかし、MMC9 誘導能は WT と sST2-KO マ

ウス由来の骨髄細胞で差がなかった。また、WT マウス由来の MMC9 様細胞の培養上清に検出される sST2 濃度は皮膚線維芽細胞の培養上清に検出される sST2 濃度の 1/10 以下であった。これらの結果は、インビトロでは sST2 は MMC9 様細胞の誘導に影響しないことが示された。さらに、WT マウス由来の BMMC や皮膚線維芽細胞の培養上清を WT マウス由来の骨髄細胞に添加して上記の MMC9 様細胞の誘導を試したところ、皮膚線維芽細胞の培養上清のみが MMC9 様細胞の誘導を抑制した。

- ⑥ HEK293T 細胞に ST2-Fc、IL-33trap-Fc、コントロール Fc を一過性に発現させて、培養上清からこれらの Fc 融合タンパク質を回収して精製した。これらの Fc 融合タンパク質の存在下で WT マウス由来の BMMC を IL-33 で刺激したときの TNF- α 産生量は Fc > ST2-Fc > IL-33trap-Fc の順に多かった。つまり、ST2-Fc と IL-33trap-Fc はともに IL-33 シグナルを抑制するが、その作用は IL-33trap-Fc の方が強いことが示された。

次に、sST2 を模倣する分子として ST2-Fc の作用を in vitro 及び in vivo で解析した。ST2-Fc の投与は IL-33 刺激による WT マウス由来の BMMC の TNF- α 産生を濃度依存的に抑制した。また、ST2-Fc の投与は前述の MMC9 様細胞の誘導を濃度依存的に抑制した。従って、骨髄細胞やマスト細胞の産生する内因性 sST2 がインビトロで IL-33 シグナ

ルを抑制することではなく、ST2-Fc の投与が IL-33 シグナルの抑制に必要であることが確認された。最後に、sST2-KO マウスの（腹腔感作後の）食物アレルギーモデルで OVA チャレンジ前に ST2-Fc あるいは Fc を腹腔投与すると、Fc 投与と比較して ST2-Fc の投与は下痢の頻度を減少させた。また、空腸マスト細胞数を減少させ、空腸マスト細胞の脱顆粒率を低下させる傾向を示した。これらの結果を総合すると OVA チャレンジに伴い空腸組織から放出される IL-33 が空腸におけるマスト細胞の増加や IgE/抗原によるマスト細胞の脱顆粒を亢進させるが、内因性 sST2 はこの IL-33 シグナルを抑制して食物アレルギーの進展を抑えると考えられた。

sST2-KO マウスの解析により、食物アレルギーの病態形成における内因性 sST2 の生理的な役割を明らかにすることができた。sST2 を模倣する ST2-Fc の投与は sST2-KO マウスの食物アレルギーの悪化を抑えることが判明し、IL-33 シグナルの抑制分子が食物アレルギーのエフェクター相を抑える予防・治療薬としての可能性を見出すことができた。また、恒常的に産生される sST2 が生体内における IL-33 シグナルの抑制に重要な働きをすること、非血球系細胞では皮膚線維芽細胞が sST2 の大きな産生源であることが判明した。他方、マスト細胞の産生する sST2 の役割は限定的であることが示唆された。また、IL-33trap-Fc は IL-33 シグナルを強く抑制することが確認

された。このように、本研究の所期の目的はおおむね達成された。他方、IL-33 シグナルを抑制する分子の改良は不十分であり、抑制作用のより優れた分子の開発は残された課題である。また、マスト細胞と皮膚線維芽細胞の sST2 の mRNA レベルの発現はそれほど変わらないが、実際に恒常的には放出されるタンパクレベルの sST2 量は大きく異なった。現時点で、マスト細胞の sST2 発現が mRNA とタンパクのレベルで大きく異なるメカニズムは不明であり、解決すべき課題である。

本研究内容は、2023 年度の第 72 回日本アレルギー学会学術大会（東京国際フォーラム：2023 年 10 月）や第 96 回日本生化学会大会（福岡国際会議場：2023 年 11 月）で発表され、研究者から大きな関心を受けた。2024 年度も第 61 回日本小児アレルギー学会などで発表予定である。また、sST2 の機能に関するマウスとヒトの相違などを明らかにし、国際学術雑誌に投稿する予定である。

今後の研究活動について

血球系細胞と非血球系細胞に分けて sST2 の産生細胞の解析を進め、同時に、ヒト由来の各種細胞も解析してヒトとマウスの相違点を明らかにする。マスト細胞の mRNA レベルにおける sST2 量は多いが、放出されるタンパクレベルの sST2 量は少なく、実際にマスト細胞の産生する sST2 による IL-33 シグナルの抑制作用は限定的であるのは大きな謎である。マスト細胞に含まれる多くのプロテアーゼなどが sST2 を分解する可能性

を考慮し、各種インヒビターが sST2 のタンパク量を回復させるかを検討する必要がある。本研究により、OVA チャレンジに伴う空腸組織における IL-33 の産生・放出が空腸マスト細胞の増加や脱顆粒を促進させること、また、内因性 sST2 がその IL-33 シグナルを抑制して食物アレルギーの病態形成を抑えることが判明したが、IL-33 が産生・放出される機序を明らかにする必要がある。食物アレルギーにおける予防・治療薬としての IL-33 シグナルの阻害薬の可能性は示されたが、IL-33trap-Fc の改良は不十分である。今後、IL-33trap-Fc に変異などを加えて、IL-33 をより強力にトラップする分子の開発を進める必要がある。

食物アレルギーの予防・治療には食物アレルギーの病態の全貌を理解することが不可欠であり、今後もさまざまな角度から基礎・臨床研究を進めていきたいと考えている。

参考文献

- 1) Oyoshi MK, Oettgen HC, Chatila TA, Geha RS, Bryce PJ. Food allergy. Insights into etiology, prevention, and treatment provided by murine models. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):309-17.
- 2) Tordesillas L, Berin MC, Sampson HA. Immunology of Food Allergy. *Immunity*. 2017 Jul 18;47(1):32-50.
- 3) Sampson HA, O'Mahony L, Burks AW, Plaut M, Lack G, Akdis CA. Mechanisms of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Jan;141(1):11-19.
- 4) Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov*. 2008 Oct;7(10):827-40.
- 5) Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Interleukin-33 in allergy. *Allergy*. 2012 Oct;67(10):1203-14.
- 6) Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2016 Nov;16(11):676-689.
- 7) Holgado A, Braun H, Van Nuffel E, Detry S, Schuijs MJ, Deswarte K, Vergote K, Haegman M, Baudelet G, Hausteraete J, Hammad H, Lambrecht BN, Savvides SN, Afonina IS, Beyaert R. IL-33trap is a novel IL-33-neutralizing biologic that inhibits allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2019 Jul;144(1):204-215.