

〔綜 説〕

単量体 IgE によるマスト細胞の生存と活性の制御

La Jolla Institute for Allergy and Immunology

川上敏明 北浦次郎 川上裕子

Key words : FcεRI aggregation — monomeric IgE — survival effect

はじめに

1863年に von Recklinghausen によりマスト細胞が記載されてから140年、Ehrlichが1879年に“Mastzellen”と命名してから、125年を超える年月が過ぎた。この間に、マスト細胞がアレルギー性疾患において中心的な役割を担うこと、そしてその活性化にはIgEが重要であることが解明されてきた。さらに最近では、アレルギー性疾患だけでなく、リウマチ性関節炎や多発性硬化症の動物モデルなどの自己免疫疾患、細菌感染、腫瘍新生、うっ血性心不全など多岐にわたる疾患や病態にマスト細胞が重要な役割を担うことが明らかにされている。

単量体 IgE によるマスト細胞の生存延長効果

2001年に、われわれと Krystal のグループは独立に、単量体 IgE が受容体 FcεRI と結合するとマスト細胞の生存延長が誘導されることを報告した。いずれもマウス骨髓由来培養マスト細胞 (BMMC) を用いて示されたが、ヒトマスト細胞でも同じ現象が示されている。しかしその作用機序については二つのグループの間でいくつかの相違点が認められた¹⁾²⁾。

われわれの実験では FcεRI の下流のシグナル伝達物質の活性化と、それに伴う脱顆粒・サイトカインの産生放出などは認められなかった。さらに BMMC を単量体 IgE とともに培養した上清を使ってマスト細胞のアポトーシス抑制作用を調べてみたが、上清にはその作用がなかった。以上より、われわれは、単量体

IgE によるアポトーシス抑制効果は、FcεRI を介した持続的かつ微弱な刺激により生まれ、その詳細な作用機序は不明であるが少なくとも液性因子の関与はないと結論した¹⁾。

一方、Krystal のグループは、単量体 IgE によるマスト細胞の明らかな活性化を示した。単量体 IgE 刺激により、ERK・p38・JNK などの MAPK, Akt の活性化が起こり、またサイトカイン産生も認められた。さらに、抗原刺激と比べてシグナル伝達物質の活性化は持続が長く、サイトカイン産生量も多いことを示した。一方脱顆粒やロイコトリエンの産生は検出感度以下か、あるいはきわめて軽微であり、この点で単量体 IgE によるマスト細胞の活性化は、抗原刺激による FcεRI の架橋凝集と質的に異なっていた。以上より、彼らは単量体 IgE による生存延長効果をマスト細胞の産生する様々なサイトカインによる効果であると考え、さらに Bcl-X_L の発現増強が最終的なアポトーシス抑制に関与していると結論した²⁾。

二種類の単量体 IgE

われわれと Krystal らは同じ BMMC を使っているのに、上記の違いは使った IgE に由来するのではないかと考えた。そこで各種の IgE でサイトカイン産生能を調べた。マスト細胞は H1-ε-26, SPE-7, C38-2 で刺激された場合にのみサイトカインを産生し、特に SPE-7 IgE による産生量は顕著であった。H1-ε-206, 27-74, IgE-3, C48-2 の刺激ではサイトカインの産生が検出感度以下であった (図 1A)。以上より、単量体 IgE をサイトカインを産生能により二種類に大別し、highly cytokinergic (HC) IgE, poorly cytokinergic IgE (PC) IgE と命名した³⁾。

単量体 IgE によるマスト細胞表面上の FcεRI 発現量の増加

血清 IgE レベルの高さが塩基球上の IgE 結合能 (し

REGULATION OF MAST CELL SURVIVAL AND ACTIVATION BY MONOMERIC IgE

Toshiaki Kawakami, Jiro Kitaura and Yuko Kawakami
La Jolla Institute for Allergy and Immunology [10355 Science Center Dr., San Diego, California 92121 USA]
E-mail : toshi@liai.org (English only), yuhkun_kawakami@hotmail.com (Japanese)

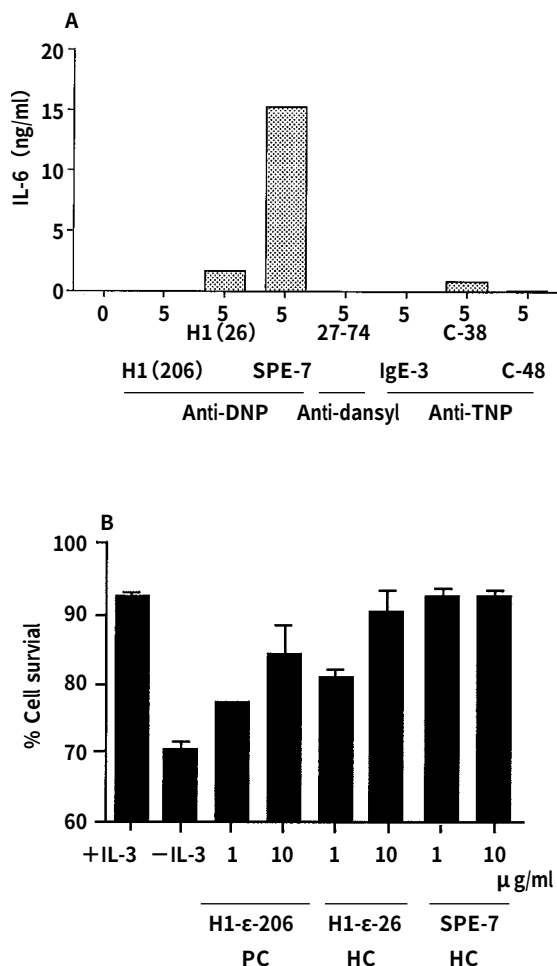


図 1. 二種類の単量体 IgE (HC vs PC) によるマスト細胞のサイトカイン産生 (A) と細胞生存延長効果 (B).

たがって FcεRI 発現量) と相関することは 70 年代に知られていたが、実験的に培養マスト細胞 RBL-2H3 を高濃度の IgE に曝すことで、FcεRI 発現量が 2~3 倍になることが 80 年代中頃に示された。1996~7 年にかけて、MacGlashan と Galli の二つのグループによって、マウスやヒトのマスト細胞でこの現象が再発見され^{4)~6)}、FcεRI 発現量が高いほど抗原刺激されたときに放出・分泌される各種の炎症に関与する物質 (ヒスタミン、脂質、サイトカイン) の量が多いことから、アトピー状態 (= 高 IgE 血症) で重症のアレルギー反応を引き起こす機序として重要であると提唱された。

さらに最近になって、単量体 IgE は、細胞膜表面上で FcεRI に結合すると安定化することでその分解消

失を抑制し、細胞内での FcεRI のリサイクリングが続く限り細胞膜表面上の FcεRI の発現を増加させることが示された⁷⁾⁸⁾。この現象は FcεRI の凝集後に活性化される様々なシグナル伝達物質を欠損した BMMC でも認められることから、FcεRI 凝集に伴うシグナル活性化とは無関係であると考えられる。ただし、上記の研究結果には強力な HC IgE を使用したデータは含まれていないと思われる点には、注意すべきである。われわれの実験によると、もっとも強力な HC IgE である SPE-7 IgE をマスト細胞に投与すると、一定濃度までは膜表面上の FcεRI 量が増加するが、それを超すと FcεRI の強い internalization が生じ、トータルの表面上の FcεRI 量は減少する。これにハプテンを投与すると FcεRI の凝集は抑制され、結果として FcεRI の internalization も抑制されるので、PC IgE と同程度に、FcεRI 発現量は濃度依存的に増加する。すなわち、単量体 IgE によるマスト細胞表面上の FcεRI 量増加機序は基本的には上記のとおりと考えられるが、HC IgE の場合その FcεRI の凝集力が膜安定化作用を上回るときには internalization が生じ、この現象は破綻する³⁾。

単量体 IgE による FcεRI の凝集

HC IgE は、抗原刺激がマスト細胞に及ぼす現象をすべて引き起こすので、抗原刺激の際に生じる FcεRI の凝集と同じ現象が、HC IgE 単独で誘導されるのではないかと予想される。FcεRI の凝集を直接に評価するために、Erythrosin でラベルした PC IgE と HC IgE を RBL 細胞 (マスト細胞株) 表面上の FcεRI に結合させ、その動きをナノからマイクロ秒の範囲で定量する、time-resolved phosphorescence anisotropy を測定した。これにより、HC IgE のみならず PC IgE でも FcεRI の凝集が自発的におきること、しかしその凝集の程度は HC IgE のほうがはるかに大きいことが証明された³⁾。

抗原による FcεRI の凝集は特異的なハプテンにより抑制されることは周知であったが¹³⁾、驚くべきことに、単量体 IgE による FcεRI の凝集、細胞生存延長効果や HC IgE によるサイトカイン産生及びシグナル伝達物質の活性化はすべて、特異的なハプテンによって濃度依存的に抑制されることが判明した (図 2)。これは、ハプテンが単量体 IgE の重鎖抗原認識部位に結合することで、その立体構造に何らかの変化を及ぼし、単量体 IgE による FcεRI の凝集が阻害されるものと

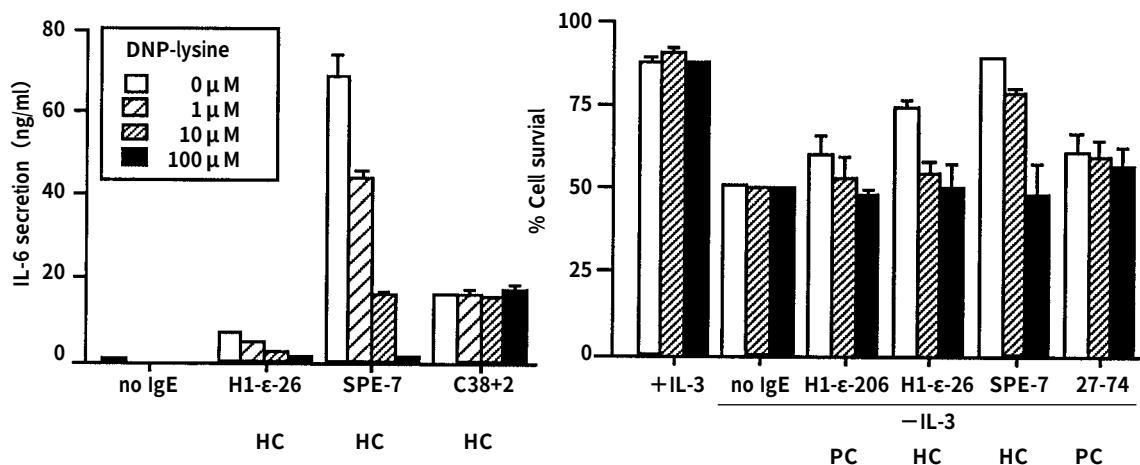


図2. 単量体IgEによるサイトカイン産生及び細胞生存延長効果に対して特異的ハプテンが及ぼす影響。

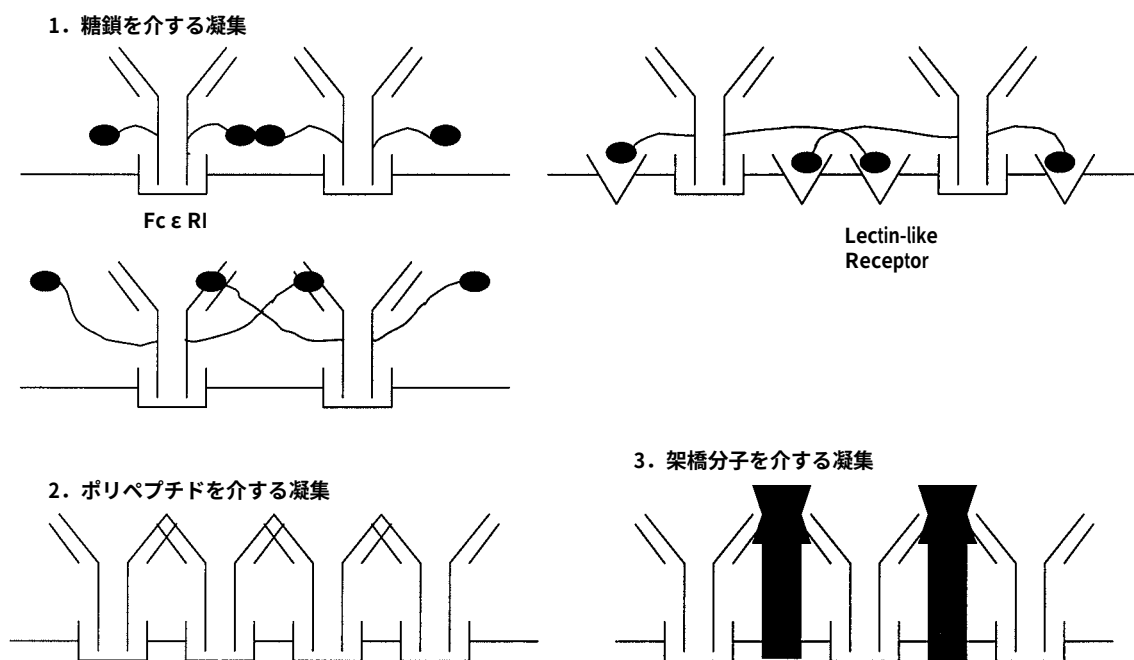


図3. 単量体IgEがFceRIを凝集させる機序のモデル。

推定される³⁾。抗原刺激によるFceRIの凝集に伴って起こる現象は、Sykチロシンキナーゼの欠損マスト細胞で消失することが知られていたが⁹⁾¹⁰⁾、Sykノックアウトマウス由来のマスト細胞では、単量体IgEによる細胞生存延長効果やHC IgEによるサイトカイン産

生も完全に消失していた。LynはSykとならびFceRI直下のシグナル伝達において重要なチロシンキナーゼであるが、このノックアウトマウスでは単量体IgE(特にPC IgE)による細胞生存延長効果のみ減弱が認められた⁸⁾。

以上より、単量体 IgE による細胞生存延長効果や HC IgE によるサイトカイン産生等の現象には、すべて FcεRI の凝集と、その下流の Syk チロシンキナーゼの活性化が不可欠であり、PC IgE と HC IgE による現象の差は、FcεRI を凝集させる強さに依存していると考えられる³⁾。

単量体 IgE による FcεRI 凝集のモデル

単量体 IgE がいかにしてそのみで FcεRI を凝集させるかは不明であるが、特異的なハプテンがこの現象を抑制することから、IgE の重鎖可変領域(あるいは抗原認識部位)を介し直接的に、あるいは膜蛋白または非蛋白性の膜物質が介在して間接的に FcεRI が凝集するいくつかのモデルが推定される(図 3)。各単量体 IgE はその蛋白電気泳動度や染色度の相違から糖修飾の違いが示唆されるが、そのことが単量体 IgE の機能的な差異に直結する証拠は認められなかった。たとえば、neuraminidase を単量体 IgE に作用させて糖鎖外側から sialic acid を除去しても、あるいは糖修飾の阻害剤をハイブリドーマに作用させ糖鎖修飾の変化した IgE を作製しても、単量体 IgE がもつ固有の性質に大きな変化は認められない。ただし、glycosidase を作用させて糖修飾を完全に除去すると、IgE は構造的に不安定になり FcεRI に結合できなくなるので、その機能評価は不可能となる。従って、現状では単量体 IgE の機能における糖修飾の関与を完全に否定することはできない。Krystal らは、単量体 IgE 間に何らかの直接的な相互引力が働くことを想定しているが、これも実証に至っていない²⁾。

in vivo における単量体 IgE の役割および新たな機能

マウスでもヒトでも、血清 IgE 値が高い状態ではマスト細胞表面上の FcεRI 量が増加しており、この現象は血清 IgE 値が高いアレルギー患者の炎症増悪に関与していると推定される。IgE 値の高いアレルギー患者の局所組織などでマスト細胞数が増加していることが知られているが、これが IgE の直接的な生存延長効果の関与によるものか調べるために、マウスの腹腔に H1-ε-206 (PC IgE)、H1-ε-26 (HC IgE)、コントロールとして IgG2b ハイブリドーマを一定細胞数注入し、2 週間後に組織におけるマスト細胞数及び血清 IgE 値を調べた。その結果、胃粘膜や空腸粘膜のマスト細胞数は、IgE ハイブリドーマ群で有意に高く、しかも HC IgE ハイブリドーマ投与群でより高値であり、マ

スト細胞数の上昇と血清 IgE 値の間には正の相関が認められた。これにより単量体 IgE による細胞生存延長効果は *in vivo* でも証明された³⁾。IgE トランスジェニックマウスにおいては組織のマスト細胞数には変化がないという報告がある¹¹⁾¹²⁾。これは単量体 IgE によるマスト細胞の生存延長効果が、組織部位によって差がある可能性や、作製されたトランスジェニックマウスの IgE が PC IgE で、その作用が現れにくい可能性が考えられる。生体組織におけるマスト細胞の局在は、実際のアレルギー炎症の場で重要であり、単量体 IgE がマスト細胞の細胞外マトリックスへの接着に及ぼす影響も注目される。最近 Krystal らは、単量体 IgE による新たな機能としてファイブロネクチンへの接着誘導を証明したが¹³⁾、われわれも同様の現象が HC IgE でのみ誘導されることを確認している(未発表データ)。

一方、最近 IgE が産生できないマウスでは抗原刺激なしで Th1 タイプのサイトカイン高値を伴う肺の慢性炎症がみとめられることが報告されており、IgE が Th1 と Th2 のホメオスタシスを調整していることが示唆されている¹⁴⁾。したがって、抗 IgE 抗体療法の基礎をより精密にする必要があり、そのためにも今後、単量体 IgE で誘導される FcεRI 凝集化の機序、HC と PC の IgE の違い、臨床症状との関連等を詳しく解明していく必要がある。

文 献

- 1) Asai, K., Kitauro, J., Kawakami, Y., et al.: Regulation of mast cell survival by IgE. *Immunity* **14**, 791, 2001.
- 2) Kalesnikoff, J., Huber, M., Lam, V., et al.: Monomeric IgE stimulates signaling pathways in mast cells that lead to cytokine production and cell survival. *Immunity* **14**, 801, 2001.
- 3) Kitauro, J., Song, J., Tsai, M., et al.: Evidence that IgE molecule mediate a spectrum of effects on mast cell survival and activation via aggregation of the FcεRI. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 12911, 2003.
- 4) Hsu, C., MacGlashan, D Jr.: IgE antibody up-regulates high affinity IgE binding on murine bone marrow-derived mast cells. *Immunol. Lett.* **52**, 129, 1996.
- 5) Yamaguchi, M., Lantz, C.S., Oettgen, H.C., et al.: IgE enhances mouse mast cell FcεRI expression

- in vitro and in vivo, evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *J. Exp. Med.* **185**, 663, 1997.
- 6) Lantz, C., Yamaguchi, M., Oettgen, H.C., et al. : IgE regulates mouse basophil Fc ϵ RI expression in vitro. *J. Immunol.* **158**, 2517, 1997.
 - 7) Borkowski, T.A., Jouvin, M.H., Lin, S.Y., et al. : Minimal requirements for IgE-mediated regulation of surface Fc ϵ RI. *J. Immunol.* **167**, 1290, 2001.
 - 8) Kubo, S., Matsuoka, K., Taya, C., et al. : Drastic up-regulation of Fc ϵ RI on mast cells is induced by IgE binding through stabilization and accumulation of Fc ϵ RI on the cell surface. *J. Immunol.* **167**, 3427, 2001.
 - 9) Costello, P.S., Turner, M., Walters, A.E., et al. : Critical role for the tyrosine kinase Syk in signaling through the high affinity IgE receptor of mast cells. *Oncogene* **13**, 2595, 1996.
 - 10) Zhang, J., Berenstein, E.H., Evans, R.L., et al. : Transfection of Syk protein kinase reconstitutes high affinity IgE receptor-mediated degranulation in a Syk-negative variant of rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *J. Exp. Med.* **184**, 71, 1996.
 - 11) Matsuoka, K., Taya, C., Kubo, S., et al. : Establishment of antigen-specific IgE transgenic mice to study pathological and immunological roles of IgE in vivo. *Int. Immunol.* **11**, 987, 1999.
 - 12) Adamczewski, M., Kohler, G., Lamers, M.C. : Expression and biological effects of high levels of serum IgE in ϵ heavy chain transgenic mice. *Eur. J. Immunol.* **21**, 617, 1991.
 - 13) Lam, V., Kalesnikoff, J., Lee, C.W., et al. : IgE alone stimulates mast cell adhesion to fibronectin via pathways similar to those used by IgE+antigen but distinct from those used by Steel factor. *Blood* **102**, 1405, 2003.
 - 14) Kang, H-S., Blink, S.E., Chin, R.K., et al. : Lymphotoxin is required for maintaining physiological levels of serum IgE that minimizes Th1-mediated airway inflammation. *J. Exp. Med.* **198**, 1643, 2003.
-