

## 山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名 山梨大学医学部附属病院リウマチ膠原病内科

職名・氏名 臨床助教 小林 義照 ㊞

## 1 研究テーマ

運動誘発性アナフィラキシーの病態解明

## 2 研究の目的

運動誘発性アナフィラキシーは、食物アレルギー患者がアレルゲン摂取後、ランニングなどの運動をすると血圧低下し致命的となるアレルギー疾患である。その機序は未だ不明で予防・治療法もない。研究代表者は、最近、アナフィラキシーで中心的な役割を果たすマスト細胞が圧受容体 PIEZO1 を介し、圧負荷により脱顆粒（ヒスタミンなどの化学伝達物質を放出）することを見出した。この機序にはアレルギー病態の誘因・増悪因子であるサイトカイン IL-33 が重要であり、食物アレルギー患者においても IL-33 が関与している。そのため、アレルギー疾患本研究の目的は、運動という体への圧負荷によってマスト細胞の PIEZO1 を介した脱顆粒が運動誘発性アナフィラキシーの機序であるという仮説を証明することである（図 1）。

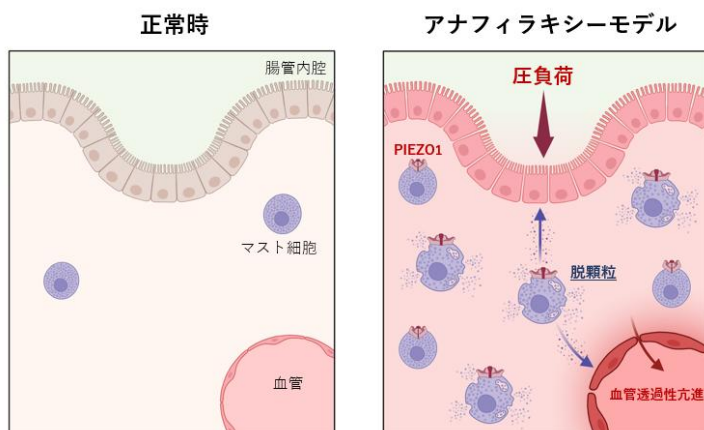


図 1) 腸管におけるマスト細胞とアナフィラキシーの仮説

IL-33 の全身的な上昇により、腸管内のマスト細胞が増加し、圧受容体 PIEZO1 の発現も亢進する。腸管内圧の上昇がマスト細胞の脱顆粒を引き起こし、アナフィラキシーを発症する可能性がある。

## 3 研究の方法

## STEP1: IL-33 投与マウスモデルにおけるアナフィラキシーの観察

マウスに IL-33 を皮下注射し、腸管マスト細胞の増加並びに PIEZO1 の共発現を確認するモデルを作成する。モデルの確立後、PIEZO1 特異的アゴニスト (Yoda1) の全身投与を行い、体温低下や下痢などのアナフィラキシー症状の定量並びに、腸管蠕動の定量化（カルミンやガラスビーズを用いた計測）を行う。

## STEP2: 食物アレルギーマウスモデルにおける PIEZO1 関与の確認

卵白アルブミン (OVA) をマウスに腹腔投与により感作させ、その後 OVA を経口投与することでアナフィラキシーを引き起こす食物アレルギーモデルを作成し、腸管マスト細胞の増加並びに PIEZO1 の発現を確認する。PIEZO1 アンタゴニスト (Dooku1, GsMTx4) の投与により、アナフィラキシー症状の変化を検討する。

## 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。

**STEP3: 運動誘発アナフィラキシーモデルの確立**

速度調整が可能なトレッドミルの作成を山梨大学工学部附属ものづくり教育実践センターに依頼し、OVA 感作マウスにおいて、運動誘発によるアナフィラキシーの系を確立する。

**4 研究の成果****STEP1:**

IL-33 マウスモデルのプロトコルを確立し、免疫染色を用い、腸管のマスト細胞の増加並びに PIEZO1 の共発現を確認した (図 2A)。IL-33 投与後 Yoda1 を投与したマウス (IL-33/Yoda1) では、体温低下の増悪を認め、またマスト細胞欠損マウスや抗ヒスタミン薬の投与で減少したことから、マスト細胞の PIEZO1 を介した脱顆粒が寄与していることが考えられた (図 2B-D)。

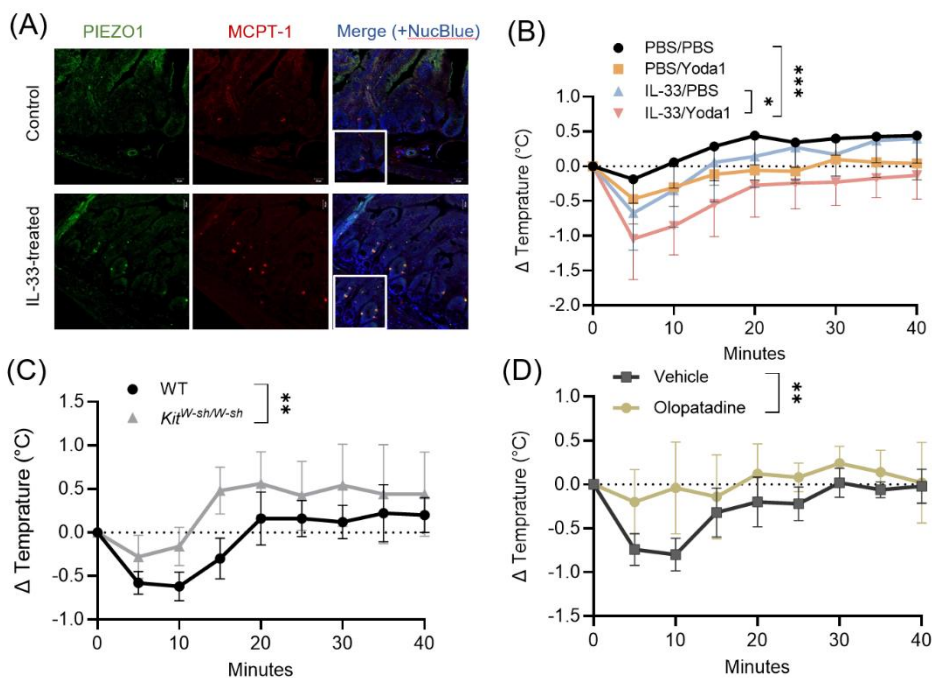


図 2) IL-33 投与マウスにおける腸管マスト細胞 (MCPT-1 赤色) と PIEZO1 (緑) の免疫染色と体温低下の図 (マスト細胞欠損: *KIT<sup>W-sh/W-sh</sup>*、抗ヒスタミン薬: Olopatadine)

**STEP2:**

食物アレルギーモデルでも同様に、腸管マスト細胞の増加並びに PIEZO1 の共発現を来していることを確認した (図 3A)。Dooku1, GsMTx4 の PIEZO1 アンタゴニスト投与マウスでは体温低下は軽減し (図 3B, C)、また腸管マスト細胞の数も減少していることが判明した。これは PIEZO1 がマスト細胞の生存増殖に寄与している可能性を示唆する結果となった。

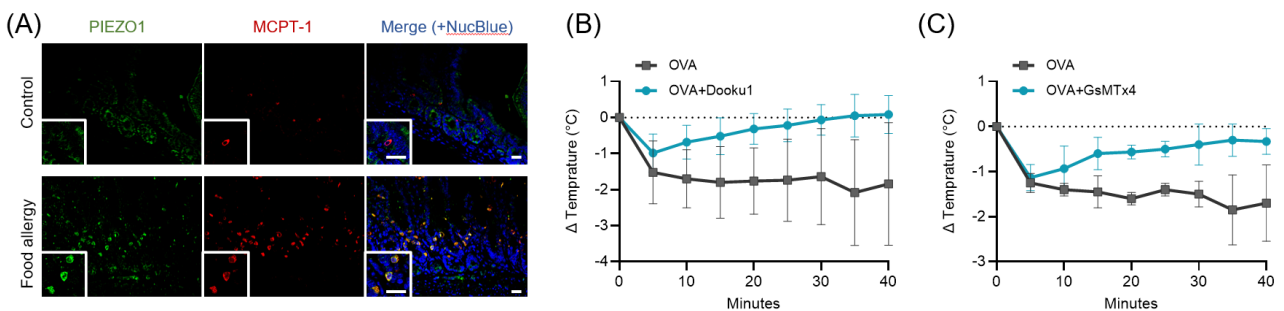


図 3) マウスにおける腸管マスト細胞 (MCPT-1 赤色) と PIEZO1 (緑) とアンタゴニスト投与による体温低下の図

**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。

**STEP3:**

OVA を少量腹腔投与後トレッドミルで運動させた (12m/s 10 分間) OVA 感作マウスでは、体温低下を来したが、運動しないマウスではアナフィラキシーは引き起こさなかった (図 4)。

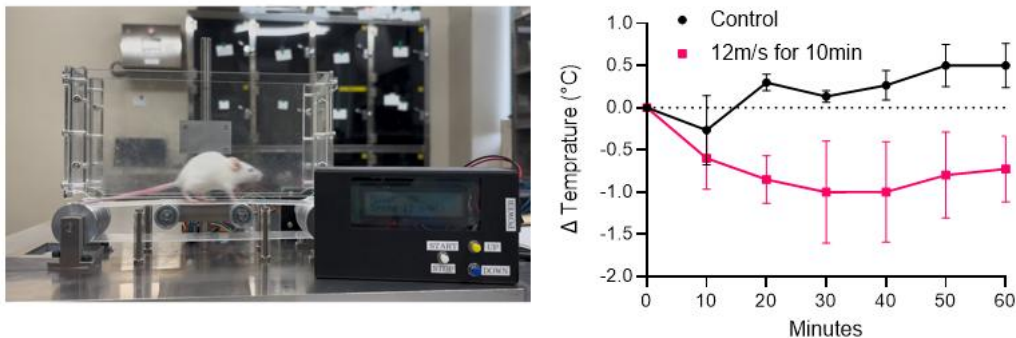


図 4) トレッドミルによるマウスの運動の様子 (左) と体温低下の図 (赤線が運動したマウス)

## 5 今後の展望

STEP3 である運動誘発アナフィラキシーモデルは概ね確立できたが、この系において前途した IL-33 マウスモデルや食物アレルギーモデルにおける検討は未だできていない状況である。また、PIEZ01 は腸管上皮細胞や神経にも発現しているためアゴニストやアンタゴニストを用いた実験のみでは、他の細胞の関与が否定できない。今後マスト細胞特異的 PIEZ01 ノックアウトマウスの作成により、より明確にアナフィラキシーにおけるマスト細胞と圧負荷の関係性が証明できるものと期待される。

## 6 研究成果の発信方法 (予定を含む)

前途した結果に加え、追加の検証も行き、論文投稿中である。アクセプト後は、山梨大学のプレスリリース、SNS を活用して、新聞、テレビ、雑誌、ネットなどの媒体を通じて広く世界へ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。