

課題番号	LS111
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	アレルギー疾患関連分子の発現制御機構とアレルギー治療・予防への応用
研究機関・ 部局・職名	順天堂大学・大学院医学研究科・准教授
氏名	西山 千春

1. 当該年度の研究目的

アレルギー疾患や自己免疫疾患の治療・予防を目標に、1) 前年度までの研究によりアレルギー反応に関わる遺伝子発現を制御する転写調節因子として同定されてきた GATA1、GATA2、PU.1 が I 型アレルギー反応の実行細胞であるマスト細胞や好塩基球での機能分子発現を制御する分子機構を更に解析する。2) T 細胞分化誘導を制御する樹状細胞において、前年度に接触性皮膚炎改善効果を見出した PU.1 の siRNA について、他の遺伝子や異なる細胞系列に対する作用を更に解析し、本分子の制御による自己免疫疾患治療の可能性を検討する。3) 上記転写調節因子群の構造-機能相関を解析するため、タンパク質発現系構築及び精製、結晶化条件を検討する。4) アレルギー疾患原因遺伝子として IgE 受容体構成分子遺伝子上多型を中心に統計学的解析からリスクファクターの程度を評価する。5) 食品由来成分のアレルギー応答への作用として核内レセプターリガンドとなるビタミン類について検討を行う。

2. 研究の実施状況

1) マスト細胞・好塩基球がアレルギー反応を稼働する際の鍵分子である IgE 受容体、マスト細胞の分化増殖、活性化を引き起こす SCF 受容体 c-kit などの発現解析から、細胞特異的転写調節因子として挙がってきた GATA1、GATA2、PU.1 が、近年アレルギー反応の関連分子として注目されている IL-33 の受容体 ST2 発現に関わることを見出し、これら転写調節因子の機能調節により ST2 発現が制御されることを明らかにした(馬場ら Allergol Int, in press; 馬場ら J Biol Chem, under revision)。

2) 抗原提示能に必須の MHC class II 分子が樹状細胞に発現する機構を解析し、コファクター CIITA の第 1 プロモーターに PU.1 が単量体で転写活性化因子として作用すると共に同プロモーター上のクロマチン構造変化にも関わることを明らかにした(北村ら J Allergy Clin Immunol, 2012)。一方、マスト細胞が Notch 刺激により MHC class II を発現することを報告してきていたが、この際にも PU.1 が CIITA の転写活性化因子として、ただし樹状細胞の場合と異なり、第 3 プロモーターを稼働させることが明らかとなった(中野ら J Biol Chem, 2011)。

3) 大腸菌を用いた組換え体発現系の条件検討の結果、いずれも可溶化タンパク質として発現することに成功した。精製タンパク質を得るまでに至っているが、精製後に凝集してしまうことから、結晶化に耐える各タンパク質の構造維持条件を検討する必要がある。

4) 小児アレルギー疾患の発症リスク、病態と、IgE 受容体の発現レベルやその遺伝子多型が関わる可能

様式19 別紙1

性について解析を行い、小児期から末梢血好塩基球、樹状細胞において IgE 受容体発現は IgE 抗体価と高い相関をもって発現し、一部遺伝子多型との相関も認められることが判明した(投稿準備中)。

5) ヒト表皮角化細胞が Vitamin D3 刺激にตอบสนองして TSLP を転写活性化する際、ヒトに特徴的なアイソフォームの発現であることが明らかとなり、マウスで報告されているアレルギー応答とは異なる仕組みの存在が予想された(投稿準備中)。

3. 研究発表等

雑 誌 論 文  計 9 件	(掲載済み－査読有り) 計 5 件 Nao Kitamura, Hokuto Yokoyama, Takuya Yashiro, Nobuhiro Nakano, Makoto Nishiyama, Shunsuke Kanada, Tatsuo Fukai, Mutsuko Hara, Shigaku Ikeda, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, and <u>Chiharu Nishiyama</u> . Role of PU.1 in MHC class II expression via transcriptional regulation of class II transactivator pI in dendritic cells. <i>Journal of Allergy Clinical Immunology</i> (2012) 129(3):814-824.e6. ISSN: 0091-6749 ( <a href="http://www.jacionline.org/article/S0091-6749(11)01651-4/abstract">http://www.jacionline.org/article/S0091-6749(11)01651-4/abstract</a> ) Chiyomi Nishida, Takeo Tomita, Makoto Nishiyama, Ryuyo Suzuki, Mutsuko Hara, Yukio Itoh, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, and <u>Chiharu Nishiyama</u> . B-transferase with Pro234Ser substitution acquires AB-transferase activity. <i>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry</i> (2011) 75(8):1570-1575. ONLINE ISSN: 1347-6947 PRINT ISSN: 0916-8451 ( <a href="https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110276/_article">https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/75/8/75_110276/_article</a> ) Daniel P. Potaczek, Nastalek, M., Ko Okumura, Wojas-Pelc, A., Anetta Undas, and <u>Chiharu Nishiyama</u> . An association of TLR2-16934A>T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis. <i>Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology</i> (2011) 25(6):715-721. ISSN 0926-9959 ( <a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-3083.2010.03812.x/abstract">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-3083.2010.03812.x/abstract</a> ) Nobuhiro Nakano, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Hideo Yagita, Akemi Koyanagi, Hideoki Ogawa, Ko Okumura. Notch1-mediated signaling induces MHC class II expression through the activation of class II transactivator promoter III in mast cells. <i>Journal of Biological Chemistry</i> (2011) 286(14):12042-12048. ISSN 0021-9258 ( <a href="http://www.jbc.org/content/286/14/12042.long">http://www.jbc.org/content/286/14/12042.long</a> ) Daniel P Potaczek, Magdalena Nastalek, Anna Wajas-Pelc, Ko Okumura, Anetta Undas, <u>Chiharu Nishiyama</u> . Naturally occurring FCERIA N222K mutation – its ethnicity-dependent distribution and a role in atopic dermatitis. <i>Molecular Immunology</i> (2011) 48(8):979-980. ISSN 0161-5890 ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21216468">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21216468</a> ) (掲載済み－査読無し) 計 0 件 (未掲載－査読有り) 計 4 件 Yosuke Baba, Keiko Maeda, Takuya Yashiro, Eisuke Inage, Francois Niyonsaba, Mutsuko Hara, Ryuyo Suzuki, Yoshikazu Ohtsuka, Toshiaki Shimizu, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, and <u>Chiharu Nishiyama</u> . Involvement of PU.1 in mast cell/basophil-specific function of the human IL1RL1/ST2 promoter. <i>Allergology International</i> in press. ISSN: 1323-8930 Anetta Undas, Daniel P. Potaczek, <u>Chiharu Nishiyama</u> , and Ko Okumura. Nonsevere allergic asthma is associated with elevated plasma protein C and protein S. <i>Thrombosis and Haemostasis</i> (2012) 107(5):1000-1002. ISSN: 0340-6245 ( <a href="http://www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/thrombosis-and-haemostasis/contents/archive/issue/1539/manuscript/17382.html">http://www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/thrombosis-and-haemostasis/contents/archive/issue/1539/manuscript/17382.html</a> ) Maya Kamijo, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Atsushi Takagi, Nobuhiro Nakano, Mutsuko Hara, Shigaku Ikeda, Ko Okumura, and Hideoki
-------------------------------------	---

様式19 別紙1

	<p>Ogawa. Cyclooxygenase-2 inhibition restores UVB-induced downregulation of ATP2A2/SERCA2 in keratinocytes. <b>British Journal of Dermatology</b> (2012) 166(5):1017-1022. ISSN: 0007-0963 (<a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2133.2011.10789.x/abstract">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2133.2011.10789.x/abstract</a>)</p> <p>Daniel P. Potaczek, Maya Kamiyo, Mutsuko Hara, Ko Okumura, Anetta Undas, and <u>Chiharu Nishiyama</u>. A comparative search for human FcεRI gene (<i>FCERIA</i>) 3'-UTR polymorphisms in Japanese and Polish populations. <b>Molecular Biology Reports</b> (2012) 39(4):3747-3753. ISSN: 0301-4851 (<a href="http://www.springerlink.com/content/811560323043162q/?MUD=MP">http://www.springerlink.com/content/811560323043162q/?MUD=MP</a>)</p>
<p>会議発表 計 24 件</p>	<p>専門家向け 計 19 件 中野信浩, <u>西山千春</u>, 小川秀興、奥村康 マスト細胞のIL-4産生がNotchシグナルによって増強されるメカニズムの解析、京都（京都女子大学）、2012年3月22日～26日（2012年3月23日発表）、日本農芸化学会（日本農芸化学会2012年度大会）、口頭発表 八代拓也、小川秀興、奥村康、<u>西山千春</u> PU.1によるTh2 サイトカイン発現抑制機構の解析、京都（京都女子大学）、2012年3月22日～26日（2012年3月23日発表・2C27p07）、日本農芸化学会（日本農芸化学会2012年度大会）、口頭発表 <u>西山千春</u>、北村奈緒、八代拓也、吉田彩子、横山北斗、中野信浩、原むつ子、金田俊介、小川秀興、西山真、奥村康 転写調節因子PU.1によるMHC class II発現調節機構、京都（京都女子大学）、2012年3月22日～26日（2012年3月23日発表・2C27p06）、日本農芸化学会（日本農芸化学会2012年度大会）、口頭発表 Nobuhiro Nakano, <u>Chiharu Nishiyama</u>, Ko Okumura, Shigaku Ikeda, Hideoki Ogawa. Antigen-presenting cell function induced in mast cells by Notch1-mediated signaling. 京都（国立京都国際会館）、2011年12月9日～11日（2011年12月9日発表）、日本研究皮膚科学会（The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology）、ポスター発表 Nao Kitamura, <u>Chiharu Nishiyama</u>, et al. Role of PU.1 in MHC class II and CD11c expression in dendritic cells. 京都（国立京都国際会館）、2011年12月9日～11日、日本研究皮膚科学会（The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology）、ポスター発表 Maya Kamiyo, <u>Chiharu Nishiyama</u>, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition restores UVB-induced downregulation of <i>ATP2A2/SERCA2</i> in keratinocytes. 京都（国立京都国際会館）、2011年12月9日～11日、日本研究皮膚科学会（The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology）、ポスター発表 Nobuhiro Nakano, <u>Chiharu Nishiyama</u>, Hideo Yagita, Ko Okumura. Tescalcin contributes to maturation of mucosal-type mast cells. 千葉（幕張メッセ）、2011年11月27日～29日（2011年11月29日発表）、日本免疫学会（第40回日本免疫学会学術集会）、ポスター発表 松田隆作、<u>西山千春</u>、臼井嘉彦、松永芳径、山川直之、毛塚剛司、後藤浩 IL-10遺伝子導入樹状細胞による実験的自己免疫視神経炎の抑制、神戸、2011年11月25日～27日、神経眼科学会 <u>西山千春</u> FcεRI の遺伝子発現とアレルギーに関わる転写調節因子の働き、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭発表（教育講演） 中野信浩, <u>西山千春</u>, 八木田秀雄, 小川秀興, 奥村康. マスト細胞のIL-4産生がNotchシグナルによって増強される機序の解析. 東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム） 発表者名：八代拓也、小川秀興、奥村康、<u>西山千春</u> 樹状細胞におけるTh2 サイトカイン産生抑制機構の解析、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表・MS21-4）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム） 鈴木竜洋、<u>西山千春</u>、原むつ子、大塚宜一、清水俊明、奥村康 小児アレルギー疾患の末梢血好塩基球及び樹状細胞における高親和性IgE受容体 (FcεRI) 発現の検討（第2報）、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（一般） 稲毛英介、鈴木竜洋、前田啓子、原むつ子、馬場洋介、大塚宜一、清水俊明、<u>西山千春</u> TSLP 遺伝子の一塩基多型が遺伝子機能に及ぼす作用の検討、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム） 北村奈緒、<u>西山千春</u>、中野信浩、八代拓也、原むつ子、深井達夫、金田俊介、奥村康、小川秀興、池田志孝 樹状細胞のMHC class II、CD11c発現における転写調節因子PU.1の役割、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム）</p>

様式19 別紙1

	<p>馬場洋介、西山千春、前田啓子、鈴木竜洋、奥村康、大塚宜一、清水俊明  IL-33 受容体のマスト細胞・好塩基球特異的発現制御機構の解明、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム）</p> <p>松田隆作、西山千春、毛塚剛司、後藤浩  CGRP 遺伝子導入免疫抑制細胞による実験的自己免疫性視神経炎の抑制、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日（2011年11月12日発表）、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（ミニシンポジウム）</p> <p>上條麻弥、西山千春、中野信浩、奥村康、小川秀興、池田志孝  vitaminD が TSLP の発現動態に与える影響、東京（グランドプリンスホテル新高輪）、2011年11月10日～12日、日本アレルギー学会（第61回日本アレルギー学会秋季学術大会）、口頭（一般）</p> <p>鈴木竜洋、西山千春、原むつ子、大塚宜一、下高原昭廣、加藤善史、山高篤行、奥村康、清水俊明  小児アレルギー疾患における末梢血好塩基球および樹状細胞の高親和性IgE受容体（FcεRI）発現の検討（第2報）、福岡、2011年10月28～30日、第48回日本小児アレルギー学会、ポスター発表</p> <p>馬場洋介、西山千春、前田啓子、鈴木竜洋、小川秀興、奥村康、大塚宜一、清水俊明  Th2 免疫応答に重要なサイトカイン IL-33 受容体のマスト細胞・好塩基球特異的発現制御機構解明、福岡、2011年10月28～30日、第48回日本小児アレルギー学会、ポスター発表</p> <p>一般向け 計5件</p> <p><u>西山千春</u>  Topics of Allergy Research in Juntendo、2011年9月27日、Charité Universitätsmedizin Berlin-Juntendo University joint symposium（ドイツ-日本国交150周年 第2回シャリテ医科大学-順天堂大学ジョイント・シンポジウム）</p> <p><u>西山千春</u>  アレルギーに関わる遺伝子発現と転写調節因子の機能、東京（山の上ホテル）、2011年9月14日、第3回順天堂眼アレルギー研究会</p> <p><u>西山千春</u>  アレルギーが起こる仕組みと遺伝子、2011年6月13日、山梨大学医学部、免疫学講座特別講義</p> <p><u>西山千春</u>  アレルギー疾患関連分子の発現制御機構とアレルギー治療・予防への応用、2011年6月13日、山梨大学医学部、免疫学講座セミナー</p> <p><u>西山千春</u>  転写調節因子 PU.1 による樹状細胞遺伝子発現制御機構、2011年6月4日、東京（コクヨホール、品川）。第7回麒麟塾（血液学若手勉強会）</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>（取得済み）計0件</p> <p>（出願中）計0件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	<p>「最先端・次世代研究開発支援プログラム～アレルギー疾患関連分子の発現制御機構とアレルギー治療・予防への応用」          トップページ、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/index.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/index.html</a>          新着情報、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/news.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/news.html</a>          研究組織、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/organization.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/organization.html</a>          研究概要、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/outline.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/outline.html</a>          研究業績、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/publications.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/publications.html</a>          学外活動風景(高等学校特別授業など)、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/activities.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/activities.html</a>          「経歴」、<a href="http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/atopy_center/keireki_nishiyama.html">http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/atopy_center/keireki_nishiyama.html</a></p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>「気になる身近な病気・アレルギーについて」、2012年2月25日、順天堂大学医学部附属練馬病院、練馬区民、60名、順天堂大学医学部附属練馬病院・練馬区教育委員会共催の区民健康医学講座にて、アレルギーが起こる仕組みや治療法に関する科学的な背景を説明。</p> <p>「『免疫』『遺伝子』をキーワードに：アレルギーが起こる仕組みと遺伝子」、2011年12月21日、福島県立安積高等学校、安積高等学校1、2年生、60名、医学・生物学に興味を持ち進路希望の安積高等学校の生徒を対象とした「安積セミナー～医の道を選ぶ～医学科の授業を受ける」にて、大学における遺伝学、医学部での免疫学・アレルギー学を、高校の生物学I、IIの内容と照らし合わせながら説明すると共に、大学院での研究から見出された最新の知見まで紹介。</p> <p>「アレルギーが起こる仕組みと遺伝子」、2011年11月29日、福島県立安積黎明高等学校、安積黎明高等学校2年生、30名、「進路講演会」にて生物系への進路を希望する生徒を対象として、高校の生物学の教科書と対比させながら、大学や大学院で学ぶ免疫学・アレルギー学・遺伝学や、現在進行中の研究の一端を紹介。</p> <p>「アレルギー関連遺伝子の発現制御(最先端・次世代研究開発支援プログラム キックオフシンポジウム～疾患治療に向けた新・開発研究～)」、2011年10月15日、順天堂大学、50名、本課題の背景となるこれまでの研究成果と、今後の展望について講演。</p> <p>「どうしてアレルギーになるのでしょうか?～アレルギーの科学と不思議」、2011年8月20日、順天堂大学、高等学校生と保護者、800名(400名x2回)、オープンキャンパスにてアレルギーの基礎やアレルギー治療・予防を目指す研究の内容、医学部大学院での研究生活の様子を紹介。</p>
新聞・一般雑誌等掲載計0件	
その他	<p>第1回サイエンス・インカレ(文部科学省主催:2012年2月18-19日)にて、審査員を担当。</p>

4. その他特記事項

大学院生・北村奈緒さんが、順天堂大学3年次ポスター発表において最優秀ポスター賞を受賞し、また、その研究成果(Kitamura N, et al. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 2012)が評価され大学院卒業時の総代を務めた。

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	120,000,000	23,188,000	22,942,000	73,870,000	0
間接経費	36,000,000	6,956,400	6,882,600	22,161,000	0
合計	156,000,000	30,144,400	29,824,600	96,031,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	23,130,880	22,942,000	0	46,072,880	45,794,175	278,705	0
間接経費	6,806,400	6,882,600	0	13,689,000	0	13,689,000	0
合計	29,937,280	29,824,600	0	59,761,880	45,794,175	13,967,705	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	39,836,940	試薬類、プラスチック等消耗品、他
旅費	200,430	農芸化学会、アレルギー学会、免疫学会、他
謝金・人件費等	4,663,617	人件費 博士研究員、他
その他	1,093,188	英文校正 他
直接経費計	45,794,175	
間接経費計	0	
合計	45,794,175	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
Neon Transfection System Starter	MPK5000S	1	992,250	992,250	2011/7/19	順天堂大学 アトピー疾患 研究センター
超高感度等温滴定 型カロリメーター	iTC200	1	22,942,500	22,942,500	2011/12/15	東京大学生物生産 工学研究センター
				0		