

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 24 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

アレルギーや自己免疫疾患の治療・予防を目指し、これら疾患に関わる細胞の分化や遺伝子発現を制御する転写調節因子の機能を解析する。具体的には、マスト細胞、好塩基球、樹状細胞、破骨細胞の特徴的な遺伝子発現を制御する転写調節因子(GATA1、GATA2、GATA3、PU.1、NFAT など)の働き、すなわち、ターゲット遺伝子の同定を進めると共に、転写調節因子の細胞内動態を解析して転写調節因子自身の制御機構を明らかにする。また、樹状細胞のマーカー分子である CD11c の制御因子を同定し、樹状細胞分化誘導に関わる転写因子特定を目指す。IgE 受容体や IL-33 受容体(IL1RL1/ST2)発現に影響を及ぼす分子を探索し、アレルギー治療や病態改善への可能性を検討する。個々の転写調節因子について、構造-機能相関を解析するため、タンパク質発現系構築、精製、結晶化条件を検討する。

2. 研究の実施状況

- 1) 近年アレルギー反応を引き起こすサイトカインとして注目されている IL-33 の受容体を発現する主要な細胞としてマスト細胞と好塩基球が挙げられる。IL-33 受容体をコードする遺伝子 IL-1RL1/ST2 の転写調節機構を解析し、GATA2 が転写活性化因子として働き、一方 GATA1 が抑制的に作用していること、GATA1 の発現レベルの差がIL-33 受容体発現と逆相関にあることを見出し、これがマスト細胞と好塩基球の遺伝子発現プロファイルの差異をもたらす一つの機構である可能性を示した(馬場ら J Biol Chem 2012)。
- 2) IgE 受容体の発現に関して、PU.1、GATA1、GATA2 がいずれも正のレギュレーターであり、これら分子をノックダウンすることによりアレルギー反応に繋がる細胞の活性化が顕著に抑制されることをヒトマスト細胞株及びプライマリーなヒトマスト細胞を用いて明らかにした(稲毛ら 投稿準備中)。
- 3) マウス骨髄由来培養樹状細胞を用いてCD11cプロモーター機能解析を行い、JunD/Fra2を構成分子とする転写因子 AP-1 が転写活性化を担うことを新たに見出した(原、横山ら 2013)。ただし、JunD/Fra2 の発現プロファイルが広範にわたることから、この AP-1 複合体だけでは CD11c の発現特異性を説明するには十分ではなく、更なる解析が必要である。現在、新たな分子を同定しつつある(北村ら 投稿準備中)。
- 4) 転写調節因子の組換え体は、精製後のタンパク質が凝集しやすいことから解決策の一つとして融合タンパク質の発現系を構築し、その精製条件を検討している。
- 5) IgE 受容体発現を抑制する分子を探索し、特定の菌体成分にその作用を見出した。現在、分子機構を解

様式19 別紙1

析している。

6) 小児アレルギー疾患における末梢血細胞における IgE 受容体発現レベルと遺伝子多型の統計学的解析の結果に正の相関を認めており、論文投稿準備中である(鈴木ら)。

3. 研究発表等

雑 誌 論 文 計 10 件	(掲載済み－査読有り) 計 10 件 Takuya Ouchi, Takeo Tomita, Akira Horie, Ayako Yoshida, Kento Takahashi, Hiromi Nishida, Kerstin Lassak, Hikari Taka, Reiko Mineki, Tsutomu Fujimura, Saori Kosono, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Ryoji Masui, Seiki Kuramitsu, Sonjo-Verena Albers, Tomohisa Kuzuyama, and Makoto Nishiyama*. Lysine and arginine biosyntheses mediated by a common carrier protein in <i>Sulfolobus</i> . <i>Nature Chemical Biology</i> (2013) 9(4): 277-283. ISSN: 1552-4450; EISSN: 1552-4469 (http://www.nature.com/nchembio/journal/v9/n4/full/nchembio.1200.html) Tomomitsu Hirota, Atsushi Takahashi, Michiaki Kubo, Tatsuhiko Tsunoda, Kaori Tomita, Masafumi Sakashita, Takechiyo Yamada, Shigeharu Fujieda, Shota Tanaka, Satoru Doi, Akihiko Miyatake, Tadao Enomoto, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Nobuhiro Nakano, Keiko Maeda, Ko Okumura, Hideoki Ogawa, Shigaku Ikeda, Emiko Noguchi, Tohru Sakamoto, Nobuyuki Hizawa, Koji Ebe, Hidehisa Saeki, Takashi Sasaki, Tamotsu Ebihara, Masayuki Amagai, Satoshi Takeuchi, Masutaka Furue, and Mayumi Tamari*. Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. <i>Nature Genetics</i> (2012) 44(11): 1222-1226. ISSN: 1061-4036; EISSN: 1546-1718 (http://www.nature.com/ng/journal/v44/n11/full/ng.2438.html) Ryusaku Matsuda, Takeshi Kezuka*, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Yoshihiko Usui, Yoshimichi Matsunaga, Yoko Okunuki, Naoyuki Yamakawa, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, and Hiroshi Goto. Interleukin-10 gene-transfected mature dendritic cells suppress murine experimental autoimmune optic neuritis. <i>Investigative Ophthalmology Visual Science</i> (2012) 53(11):7235-7245. ISSN: 1552-5783 (http://www.iovs.org/content/53/11/7235.long) Mutsuko Hara†, Hokuto Yokoyama†, Kanako Fukuyama, Nao Kitamura, Naomi Shimokawa, Keiko Maeda, Shunsuke Kanada, Tomonobu Ito, Yoshihiko Usui, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Makoto Nishiyama, and <u>Chiharu Nishiyama</u> *. Transcriptional regulation of the mouse CD11c promoter by AP-1 complex with JunD and Fra2 in dendritic cells. <i>Molecular Immunology</i> (2013) 53(3):295-301. (†; contribute equal first author) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22990073) Yosuke Baba†, Keiko Maeda†, Takuya Yashiro†, Eisuke Inage, Kazumi Kasakura, Ryuyo Suzuki, Francois Niyonsaba, Mutsuko Hara, Atsushi Tanabe, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Yoshikazu Ohtsuka, Toshiaki Shimizu, and <u>Chiharu Nishiyama</u> *. GATA2 is critical transactivator for human <i>IL1RL1/ST2</i> promoter in mast cells/basophils: Opposing roles for GATA2 and GATA1 in human <i>IL1RL1/ST2</i> gene expression. <i>The Journal of Biological Chemistry</i> (2012) 287(39):32689-32696. Print ISSN: 0021-9258; Online ISSN: 1083-351X (†; contribute equal first author) (http://www.jbc.org/content/287/39/32689.long) Ryusaku Matsuda, Takeshi Kezuka*, <u>Chiharu Nishiyama</u> , Yoshihiko Usui, Yoshimichi Matsunaga, Yoko Okunuki, Naoyuki Yamakawa, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, and Hiroshi Goto. Suppression of the murine experimental autoimmune optic neuritis by mature dendritic cells transfected with calcitonin gene-related peptide gene. <i>Investigative Ophthalmology Visual Science</i> (2012) 53(9):5475-5485. ISSN: 1552-5783 (http://www.iovs.org/content/53/9/5475.long) 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
--------------------------------------	--

様式19 別紙1

	<p>cell/basophil-specific function of the human <i>IL1RL1/ST2</i> promoter. <i>Allergology International</i> (2012) 61(3):461-467. ISSN: 1323-8930 (http://ai.jsaweb.jp/fulltext/061030461/061030461_index.html)</p> <p>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 (http://www.schattauer.de/de/magazine/uebersicht/zeitschriften-a-z/thrombosis-and-haemostasis/contents/archive/issue/1539/manuscript/17382.html)</p> <p>Maya Kamijo, <u>Chiharu Nishiyama</u>, Atsushi Takagi, Nobuhiro Nakano, Mutsuko Hara, Shigaku Ikeda, Ko Okumura, and Hideoki Ogawa. Cyclooxygenase-2 inhibition restores UVB-induced downregulation of ATP2A2/SERCA2 in keratinocytes. <i>British Journal of Dermatology</i> (2012) 166(5):1017-1022. ISSN: 0007-0963 (http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2133.2011.10789.x/abstract)</p> <p>Daniel P. Potaczek, Maya Kamijo, Mutsuko Hara, Ko Okumura, Anetta Undas, and <u>Chiharu Nishiyama</u>. A comparative search for human FcεRI gene (<i>FCER1A</i>) 3'-UTR polymorphisms in Japanese and Polish populations. <i>Molecular Biology Reports</i> (2012) 39(4):3747-3753. ISSN: 0301-4851 (http://www.springerlink.com/content/811560323043162q/?MUD=MP)</p> <p>(掲載済み－査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 24 件</p>	<p>専門家向け 計 19 件 中野信浩、西山千春、奥村康、小川秀興 粘膜型マスト細胞の分化・成熟における Notch シグナルの役割、仙台(東北大学川内北キャンパス)、2013 年 3 月 24 日～26 日(2013 年 3 月 26 日)、日本農芸化学会(日本農芸化学会 2013 年度大会)、口頭発表 八代拓也、原むつ子、小川秀興、奥村康、西山千春 樹状細胞において PU.1 は CCR7 の発現を制御する、仙台(東北大学川内北キャンパス)、2013 年 3 月 24 日～26 日(2013 年 3 月 26 日)、日本農芸化学会(日本農芸化学会 2013 年度大会)、口頭発表 笠倉和己、稲毛英介、鈴木竜洋、八代拓也、馬場洋介、原むつ子、大塚宜一、清水俊明、大保木啓介、松本健治、斎藤博久、小川秀興、奥村康、西山千春 ヒト FcεRI 発現制御における転写因子の直接的な役割、仙台、2013 年 3 月 24 日～26 日(2013 年 3 月 25 日)、日本農芸化学会(日本農芸化学会 2013 年度大会)、口頭発表 Nobuhiro Nakano, Chiharu Nishiyama, Ko Okumura, Hideoki Ogawa Notch signaling augments mast cell cytokine production by direct and indirect mechanisms、那覇(パシフィックホテル沖縄)、2012 年 12 月 7 日～9 日(12 月 7 日)、日本研究皮膚科学会(第 37 回年次学術大会・総会)、ポスター発表 Kazumi Kasakura, Mutsuko Hara, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Chiharu Nishiyama Suppression of FcεRI expression on mast cells by bacterial component、神戸(神戸国際会議場)、2012 年 12 月 5 日～7 日(12 月 6 日)、日本免疫学会(第 41 回日本免疫学会総会学術集会)、ポスター・口頭発表 Eisuke Inage, Chiharu Nishiyama, Ryuyo Suzuki, Kazumi Kasakura, Takuya Yashiro, Yosuke Baba, Mutsuko Hara, Yoshikazu Ohtsuka, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Toshiaki Shimizu RNA interference of transcription factors suppresses expression of human FcεRI、神戸(神戸国際会議場)、2012 年 12 月 5 日～7 日(12 月 6 日)、日本免疫学会(第 41 回日本免疫学会総会学術集会)、ポスター・口頭発表 八代拓也、小川秀興、奥村康、西山千春 マスト細胞における GATA3 の機能解析、大阪(大阪国際会議場)、2012 年 11 月 29 日～12 月 1 日(2012 年 12 月 1 日)、日本アレルギー学会(第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会)、口頭発表 前田啓子、馬場洋介、八代拓也、稲毛英介、鈴木竜洋、Niyonsaba Francois、原むつ子、小川秀興、奥村康、大塚宜一、清水俊明、西山千春 ヒトマスト細胞、好塩基球における ST2 遺伝子の発現調節、大阪(大阪国際会議場)、2012 年 11 月 29 日～12 月 1 日(2012 年 12 月 1 日)、日本アレルギー学会(第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会)、口頭発表 石山健太郎、西山千春、八代拓也、田村直人、奥村康、小川秀興、高崎芳成 破骨細胞における転写調節因子 PU.1 の役割と TGF-β 刺激の影響、大阪(大阪国際会議場)、2012 年 11 月 29 日～12 月 1 日(2012 年 12 月 1 日)、日本アレルギー学会(第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会)、口頭発表 中野信浩、西山千春、八木田秀雄、奥村康、小川秀興 Notch シグナルによって成熟が誘導された粘膜型マスト細胞の形質と機能、大阪(大阪国際会議場)、2012 年 11 月 29 日～12 月 1 日(2012 年 11 月 29 日)、日本アレルギー学会(第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会)、口頭発表 北村奈緒、西山千春、八代拓也、中野信浩、原むつ子、金田俊介、奥村康、小川秀興、池田志学 Role of PU.1 in MHC class II expression through transcriptional regulation of class II transactivator pI in dendritic cells、長野(ホ</p>

様式19 別紙1

	<p>テルメトポリタン長野)、2012年11月3日、第26回表皮細胞研究会、ポスター・口頭発表 石山健太郎、西山千春、八代拓也、田村直人、高崎芳成 破骨細胞分化における転写調節因子 PU.1 と TGF-βシグナルの影響、東京(京王プラザホテル)、2012年9月27日~29日 (2012年9月28日)、日本臨床免疫学会(第40回日本臨床免疫学会)、ポスター発表 Nao Kitamura, Chiharu Nishiyama, Takuya Yashiro, Nobuhiro Nakano, Shunsuke Kanada, Mutsuko Hara, Tatsuo Fukai, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Shigaku Ikeda A role of transcription factor PU.1 in the gene expression of dendritic cells、イタリア ヴェニス、2012年9月19~22日、42nd annual ESDR meeting 2012、ポスター発表 馬場洋介、西山千春、稲毛英介、前田啓子、Niyonsaba Francois、八代拓也、原むつ子、鈴木竜洋、大塚宜一、小川秀興、奥 村康、清水俊明 GATA2は肥満細胞・好塩基球におけるヒトIL1RL1/ST2プロモーターの重要な転写調節因子である、大阪(大阪国際会議場)、 2012年9月15日~16日(2012年9月15日)、第49回日本小児アレルギー学会、口頭発表 稲毛英介、西山千春、鈴木竜洋、馬場洋介、大塚宜一、奥村康、小川秀興、清水俊明 ヒト FcεRI 受容体発現調節、大阪(大阪国際会議場)、2012年9月15日~16日(2012年9月15日)、第49回日本小児アレ ルギー学会、口頭発表 松田隆作、毛塚剛司、臼井嘉彦、奥貫陽子、松永芳径、山川直之、後藤浩、西山千春 CGRP 遺伝子導入樹状細胞による実験的自己免疫視神経炎抑制のメカニズム解析、横浜(パンフィコ横浜)、2012年7月14 日~16日(2012年7月15日)、2012年眼炎症学会、口頭発表 Ryusaku Matsuda, Takeshi Kezuka, Chiharu Nishiyama, Yoshihiko Usui, Yoshimichi Matsunaga, Yoko Okunuki, Naoyuki Yamakawa, Hiroshi Goto Interleukin-10 gene transfected regulatory dendritic cells suppress murine experimental autoimmune optic neuritis、フロリダ州 フォートローダーデール、2012年5月6日~10日(2012年5月9日)、ARVO 国際眼科学会、ポスター発表 石山健太郎、西山千春、頭山尚子、田村直人、高崎芳成 破骨細胞分化における TGF-βシグナルと転写調節因子 PU.1、東京(グランドプリンスホテル新高輪)、2012年4月26日~28 日(2012年4月26日)、日本リウマチ学会(第56回日本リウマチ学会)、ポスター発表 松田隆作、西山千春、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抑制メカニズムの改正、東京(東京国際フォーラム)、2012年4 月5日~8日(2012年4月7日)、日本眼科学会、口頭発表</p> <p>一般向け 計5件 <u>西山千春</u> 母・妻・研究者、2013年3月27日、第20回記念農芸化学会フロンティアシンポジウム <u>西山千春</u> 免疫担当細胞の遺伝子転写調節、2013年3月28日、第20回記念農芸化学会フロンティアシンポジウム <u>西山千春</u> アレルギー反応を制御する転写調節因子の機能、2012年11月19日、東京理科大学基礎工学部生物工学科公開セミナー <u>西山千春</u> アレルギーが起こる仕組みと遺伝子、2012年6月11日、山梨大学医学部、免疫学講座特別講義 <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、2012年6月11日、山梨大学 医学部、免疫学講座セミナー</p>
<p>図 書 計 4 件</p>	<p><u>西山千春</u> 分子腎臓病学実験操作法「遺伝子発現の解析-レポーターアッセイ」、2013年出版、中外医学社、総ページ数238ページ <u>西山千春</u> 分子腎臓病学実験操作法「遺伝子発現の解析-ゲルシフトアッセイ」、2013年出版、中外医学社、総ページ数238ページ <u>西山千春</u> アレルギーの臨床 2012年9月号「アレルギー研究の最近の話題(特集「アレルギー研究の最先端」総論)」、2012年出版、 北隆館、総ページ数98ページ <u>西山千春</u> アレルギーの臨床 2012年9月号「マスト細胞、樹状細胞を制御する転写調節因子 ~GATA1、GATA2、FOG1 の機能」、 2012年出版、北隆館、総ページ数98ページ</p>

様式19 別紙1

<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>
<p>W e b ペ ー ジ (U R L)</p>	<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、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/index.html 新着情報、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/news.html 研究組織、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/organization.html 研究概要、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/outline.html 研究業績、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/publications.html 学外活動風景(高等学校特別授業など)、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/activities.html 「経歴」、http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/atopy_center/keireki_nishiyama.html</p> <p>(東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 研究室紹介、http://www.rs.noda.tus.ac.jp/~biost/labo/nisiyama.html)</p>
<p>国 民 と の 科 学 ・ 技 術 対 話 の 実 施 状 況</p>	<p>「転写調節因子を介したマスト細胞・樹状細胞の機能制御(最先端・次世代研究開発支援プログラム 第2回シンポジウム)、 2012年12月21日、順天堂大学、50名、本課題の当該年度1年間の研究成果と、今後の展望について講演。</p> <p>「理系のすゝめ」、2012年12月19日、福島県立会津学鳳中高等学校中学3年生と高校1、2年生(SSH選択者)、120名、 「SSH 理系女子講演会」にて自身の中学高校時代の様子や東京大学時代の学生生活を紹介し、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>「からだを守る免疫の仕組みからアレルギーを考える」、2012年10月17日、都民、200名、東京都医学総合研究所・平成24 年度第5回都民講座にて、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>「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」、2012年8月25日、順天堂大学、高等学校生と保護 者、400名、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> <p>「免疫ふしぎ未来2012」(お台場・未来館)、2012年8月19日、日本免疫学会アウトリーチ活動の一環であるイベントに実行委 員として参加。来場者1500名。免疫学をわかりやすく紹介するパネルや展示物の説明など。</p>
<p>新 聞 ・ 一 般 雑 誌 等 掲 載 計 0 件</p>	

様式19 別紙1

その 他	第2回サイエンス・インカレ(文部科学省主催:2013年2月2、3日、幕張メッセ国際会議場)にて、審査員を担当。
---------	---

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

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	46,130,000	28,000,000	45,870,000	0
間接経費	36,000,000	13,839,000	8,400,000	13,761,000	0
合計	156,000,000	59,969,000	36,400,000	59,631,000	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	278,705	28,000,000	0	28,278,705	25,257,813	3,020,892	0
間接経費	13,689,000	8,400,000	0	22,089,000	21,182,732	906,268	0
合計	13,967,705	36,400,000	0	50,367,705	46,440,545	3,927,160	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	14,338,272	試薬類、マウス等消耗品 他
旅費	538,560	アレルギー学会、免疫学会、農芸化学会 等
謝金・人件費等	9,511,943	博士研究員人件費
その他	869,038	英文校正 他
直接経費計	25,257,813	
間接経費計	21,182,732	
合計	46,440,545	

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
				0		
				0		
				0		