

**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 25 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	東京理科大学・基礎工学部・生物工学科・教授
氏名	西山 千春

### 1. 当該年度の研究目的

これまでの研究成果として、造血系細胞特異的転写調節因子 PU.1、GATA1、GATA2、GATA3 などがマスト細胞・好塩基球、樹状細胞の機能分子の遺伝子発現に様々な機構で関わることを見出してきた。当該年度は、これら転写調節因子のノックダウンによりエフェクター細胞の活性化を抑制することを示し、アレルギーや自己免疫疾患の治療・予防へ繋がる標的となり得る可能性を検証する。さらに、生理的に意義のある治療法への展開を進めるため、標的となる転写調節因子の発現や機能を制御する分子を化合物ライブラリーや食品微量成分、菌体成分などから探索する。樹状細胞の機能発現に重要であり、マスト細胞での遺伝子発現にも GATA と共に関わることを判明してきた PU.1 を最優先に、構造-機能相関を解析するため、タンパク質発現系と精製条件を確立し、結晶化を目指す。

### 2. 研究の実施状況

1) IgE 受容体  $\beta$  サブユニットの発現に対し、GATA2 が直接  $\beta$  遺伝子プロモーター上の連続した GATA 配列に結合して転写活性化を担っている分子機構を明らかにした。また、 $\alpha$  サブユニット遺伝子プロモーターを PU.1 と GATA1 が協調的に転写活性化することを過去に報告していたが、新たに GATA2 も  $\alpha$  遺伝子の正の制御因子であることを見出した。これらの知見を基に、ヒトマスト細胞株及びプライマリーマスト細胞において PU.1、GATA1、GATA2 のノックダウンが細胞表面の IgE 受容体発現レベルだけでなくアレルギー反応も抑えることを示した(稲毛、笠倉ら J Immunol 2014)。

2) 樹状細胞における MHC class II 発現や CD80、CD86 発現に PU.1 が正の調節因子として直接、あるいは間接的に関わる分子機構を本プログラム期間中に報告してきたが(金田ら Blood 2011、北村ら J Allergy Clin Immunol 2012)、引き続き樹状細胞のマーカー分子である CD11c 発現にも PU.1 が関わること、及びその仕組みを明らかにした(八代、北村ら 投稿準備中)。さらに、マイクロアレイ解析を用いて PU.1 標的分子を洗い出し CCR7 や OX40L が転写調節を受けている詳細を明らかにした(いずれも八代ら 投稿準備中)。これらの知見から PU.1 の発現抑制が樹状細胞の機能制御に有効であると期待され、現在は PU.1 機能抑制効果を持つ分子探索を行っている。すでに特定の細胞外刺激因子に抑制効果があることを発見しており、その作用機構を解析している。

3) 昨年度 IL-33 受容体をコードする遺伝子 IL-1RL1/ST2 の転写調節機構を報告したことに続き(馬場ら J Biol Chem 2012)、デコイ受容体となる可溶化型 ST2 の発現制御機構を解析している。さらに可溶化型 ST2 の発現を上昇させ膜結合型 ST2 の発現を抑制する特定の条件を見出しており、この機構を利用したアレ

様式19 別紙1

ルギー反応抑制効果を検証している(笠倉ら 投稿準備中)。

4) PU.1 の組換え体発現及びタンパク質精製条件を確立することができた。現在、精製タンパク質の結晶化条件を検討している。

5) IgE 受容体発現を抑制する菌体成分について発現抑制の分子機構を解析し、少なくとも特定のサイトカイン産生を誘導することが抑制作用の一部を担っていることが示された(笠倉ら 投稿準備中)。また、化合物ライブラリーから IgE 受容体発現抑制物質の探索を進めた結果、複数の候補分子を見出している。これらについて抑制機構を解析すると同時に、より強い効果を示す類縁体化合物の探索も進めている。

6) 破骨細胞の分化において、PU.1 が個々の細胞特異的遺伝子発現に関わる機構を解析した(石山、八代ら 投稿準備中)。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件 Eisuke Inage, Kazumi Kasakura, Takuya Yashiro, Ryuyo Suzuki, Yosuke Baba, Nobuhiro Nakano, Mutsuko Hara, Atsushi Tanabe, Keisuke Oboki, Kenji Matsumoto, Hirohisa Saito, François Niyonsaba, Yoshikazu Ohtsuka, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Toshiaki Shimizu, and <u>Chiharu Nishiyama</u>* Critical roles for PU.1, GATA1 and GATA2 in the expression of human FcεRI on mast cells: PU.1 and GATA1 transactivate <i>FCERIA</i>, and GATA2 transactivates <i>FCERIA</i> and <i>MS4A2</i>. <i>The Journal of Immunology</i> (2014) 192(8):3936-3946. ISSN: 0022-1767 (Print), 1550-6606 (Electronic) (<a href="http://www.jimmunol.org/content/192/8/3936.long">http://www.jimmunol.org/content/192/8/3936.long</a>) Yuki Nakamura, Nobuhiro Nakano, Kayoko Ishimaru, Mutsuko Hara, Takao Ikegami, Yu Tahara, Ryohei Katoh, Hideoki Ogawa, Ko Okumura, Shigenobu Shibata, <u>Chiharu Nishiyama</u>, and Atsuhito Nakao* Circadian regulation of allergic reaction by the mast cell clock in mice. <i>The Journal of Allergy and Clinical Immunology</i> (2013) 133(2):565-575.e12. ISSN:0091-6749 (Print), 1097-6825 (Electronic) (<a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009167491301213X">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009167491301213X</a>) Schendzielorz, G., Dippong, M., Grünberger, A., Kohlheyer, D., Yoshida, A., Binder, S., <u>Nishiyama, C.</u>, Nishiyama, M., Bott, M., Eggeling, L. Taking control over control: Use of product sensing in single cells to remove flux control at key enzymes in biosynthesis pathways. <i>American Chemical Society Synthetic Biology</i> Jul 15, (2013). ISSN: 2161-5063 (<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23829416">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23829416</a>) (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載一査読有り) 計 1 件 Kazumi Kasakura, Kyoko Takahashi*, Tomoko Ito, Akira Hosono, Yoshika Momose, Kikuji Ito, <u>Chiharu Nishiyama</u>, and Shuichi Kaminogawa Commensal bacteria directly suppress in vitro degranulation of mast cells in a MyD88-independent manner. <i>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry</i> in press. (2014)</p>
<p>会議発表 計 14 件</p>	<p>専門家向け 計 11 件 中野信浩、西山千春、奥村 康、小川秀興 粘膜型マスト細胞分化における Notch シグナルと IL-3 シグナルの協調作用 明治大学、東京、2014 年 3 月 27 日～30 日(2014 年 3 月 30 日)、日本農芸化学会 2014 年度大会、口頭発表 八代拓也、奥村康、西山千春 樹状細胞における OX40L 発現制御機構の解析 明治大学、東京、2014 年 3 月 27 日～30 日(2014 年 3 月 28 日)、日本農芸化学会 2014 年度大会、口頭発表 笠倉 和巳、八代 拓也、奥村 康、西山 千春 GATA2 によるマスト細胞の ST2 遺伝子発現制御機構 明治大学、東京、2014 年 3 月 27 日～30 日(2014 年 3 月 28 日)、日本農芸化学会 2014 年度大会、口頭発表</p>

様式19 別紙1

	<p>KAMACHI Fumitaka, HARADA Norihiro, NISHIYAMA Chiharu, IZAWA Kumi, KITAUURA Jiro, OKUMURA Ko, MIYAKE Sachiko, AKIBA Hisaya</p> <p>Soluble form of TIM-4 regulates mast cell activation by binding to LMIR5 and TIM-3. 第42回 日本免疫学会学術集会、2013年12月11日～2013年12月13日、幕張メッセ、千葉市、口頭発表 笠倉 和巳、八代 拓也、奥村 康、西山 千春 マスト細胞における分泌型 ST2 の発現制御 神戸、2013年12月3日～6日(2013年12月4日)、日本分子生物学会、ポスター発表 八代拓也、田辺篤、原むつ子、奥村康、西山千春 PU.1 は CCR7 の発現を調節することで樹状細胞の移行を制御する 神戸、2013年12月3日～6日(2013年12月3日)、日本分子生物学会、ポスター発表 中野信浩、西山千春、奥村 康、小川秀興 Notch シグナルは IL-3 存在下において粘膜型マスト細胞の分化を促進する ホテルニューオータニ、東京、2013 年 11 月 28 日～30 日(2013 年 11 月 28 日)、第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会、口頭発表 Takuya Yashiro, Mutsuko Hara, Ko Okumura, Chiharu Nishiyama PU.1 regulates CCR7 expression in dendritic cells MiCo - Milano Congressi, Milan, Italy, 22 Aug 2013 - 27 Aug 2013 (26 Aug 2013)、15th International Congress of Immunology (ICI)、ポスター発表 Fumitaka Kamachi, Mutsuko Hara, Nobuhiro Harada, Y. Katsura, Yuko Kojima, Kumi Izawa, Chiharu Nishiyama, Ko Okumura, Hisaya Akiba Anti-TIM-4 mAb ameliorates allergic lung inflammation by inhibition TIM-4-mediated mast cell stimulation. MiCo - Milano Congressi, Milan, Italy, 22 Aug 2013 - 27 Aug 2013、15th International Congress of Immunology (ICI)、ポスター発表 Nobuhiro Nakano, Chiharu Nishiyama, Hideo Yagita, Ko Okumura, Hideoki Ogawa Notch1 signaling confers antigen-presenting functions on mast cells MiCo - Milano Congressi, Milan, Italy, 22 Aug 2013 - 27 Aug 2013 (23 Aug 2013)、15th International Congress of Immunology (ICI)、ポスター発表 Chiharu Nishiyama, Eisuke Inage, Kazumi Kasakura, Taokuya Yashiro, Mutsuko Hara, Hirohisa Saito, Toshiaki Shimizu, Hideo Ogawa, Ko Okumura Involvement of transcription factors PU.1, GATA1 and GATA2 in the expression and function of human FcεRI on mast cells. MiCo - Milano Congressi, Milan, Italy, 22 Aug 2013 - 27 Aug 2013 (23 Aug 2013)、15th International Congress of Immunology (ICI)、ポスター発表</p> <p>一般向け 計 3 件 <u>西山千春</u> 「免疫担当細胞の機能を制御する転写調節因子」、第 7 回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム、2014 年 3 月 6 日、東京大学大学院農学生命科学研究科フードサイエンス棟、100 名 <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」最先端研究開発支援プログラム FIRST EXPO 2014、2014 年 2 月 28 日、ベルサール新宿グラウンド、ポスター発表 <u>西山千春</u> 「アレルギーが起こる仕組みと遺伝子」、2013 年 5 月 27 日、山梨大学医学部、免疫学講座特別講義</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>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 西山研究室 研究室紹介、 <a href="http://www.rs.tus.ac.jp/chinishi/index.html">http://www.rs.tus.ac.jp/chinishi/index.html</a> 東京理科大学公式ページ 西山千春(教員プロフィール)、<a href="http://www.tus.ac.jp/fac_grad/p/index.php?6821">http://www.tus.ac.jp/fac_grad/p/index.php?6821</a></p>

様式19 別紙1

	<p>東京理科大学ホームページ ニュース&amp;イベント、「アレルギー反応を起こす細胞の遺伝子調節の仕組みを発見：本学基礎工学部生物工学科西山千春教授らのグループが、アレルギーを起こす白血球の遺伝子を調べ、アレルギー反応を抑えることに成功しました。」、<a href="http://www.tus.ac.jp/news/news.php?20140410130209">http://www.tus.ac.jp/news/news.php?20140410130209</a></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」</p> <p>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></p> <p>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></p> <p>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></p> <p>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></p> <p>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></p> <p>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></p> <p>「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>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>「アレルギー・免疫の分子生物学的基礎から応用に向けて」(最先端・次世代研究開発支援プログラム 第3回シンポジウム)、2013年11月30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>研究室訪問、2013年11月15日、東京理科大学葛飾キャンパス、20名、不動岡高校生徒の来訪を受け、研究室所属の学生や研究員が研究室を案内し、研究内容について説明。</p> <p>「研究の魅力・理系のすゝめ(女性研究者としての生き方)」、2013年10月4日、福島県立会津学鳳中高等学校、中学生全校生300名、「SSH講演会(中学校)」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>「気になる身近な病気、アレルギーについて～体を守る免疫の仕組みからアレルギーを考える～」(かつしか区民大学オータムオープンカレッジ)、2013年9月29日、東京理科大学葛飾キャンパス、200名、葛飾区教育委員会事務局生涯学習課が東京理科大学と共同で開催している講演会にて、葛飾区民向け広報やちらしを見て申し込まれた地域住民の方々を対象に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>「免疫ふしぎ未来2012」(お台場・未来館)、2013年8月11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>オープンキャンパス、2013年8月7日、東京理科大学葛飾キャンパス、来場者は学科展示パネル会場のみで600名、免疫学の基礎から現在の研究内容までをポスターやパネルで展示し、研究室所属の学生らが来場者に説明。他に、個別に研究室を訪れて来た高校生に研究内容なども説明。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計1件</p>	<p>「花粉症はなぜ起こる？」中日こどもウィークリー新聞「ワクワク未来教室」、2014年3月29日</p>
<p>その他</p>	<p>第3回サイエンス・インカレ(文部科学省主催：2014年3月1、2日、幕張メッセ国際会議場)にて、審査員を担当。</p> <p>JSI Newsletter(日本免疫学会会報)、2014年春号、「新しい研究室を開くにあたって」のコーナーに「研究も教育も！しっかりと楽しめて」と題して「東京理科大学 基礎工学部 生物工学科 西山千春研究室」紹介記事を掲載。</p>

様式19 別紙1

4. その他特記事項

2013年9月1日付けで東京理科大学基礎工学部生物工学科教授に就任。新研究室は2013年4月より発足しており、学部生への講義や実習、研究指導などの業務が発生していたため、順天堂大学准教授の身分で東京理科大学の非常勤講師を兼任する形で両大学での研究・教育などに従事した。順天堂大学では2013年9月1日より非常勤講師、2014年4月1日より客員教授。

## 実施状況報告書(平成25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	74,130,000	45,870,000	0	0
間接経費	36,000,000	22,239,000	13,761,000	0	0
合計	156,000,000	96,369,000	59,631,000	0	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	3,020,892	45,870,000	0	48,890,892	48,890,892	0	0
間接経費	906,268	13,761,000	0	14,667,268	14,667,268	0	0
合計	3,927,160	59,631,000	0	63,558,160	63,558,160	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	42,801,676	高性能フローサイトメーター、実験試薬 他
旅費	880,620	国際免疫学会、日本分子生物学会 他
謝金・人件費等	4,794,852	博士研究員人件費
その他	413,744	学会参加費・演題登録料、英文校正 他
直接経費計	48,890,892	
間接経費計	14,667,268	
合計	63,558,160	

## 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
Nucleofector 2b Device	LONZA AAB-1001	1	992,250	992,250	2013/7/31	東京理科大学
リアルタイムPCRシ ステム	ライネカ/ロジ StepOnePlus-01VP021	1	3,761,100	3,761,100	2013/8/1	東京理科大学
密閉式超音波細胞 破碎装置	コスモバイオ UCD-300	1	1,505,175	1,505,175	2013/7/31	東京理科大学
超低温槽	Thermo Forma 45iL 100V 20A	1	1,669,500	1,669,500	2013/7/31	東京理科大学
バイオクリーンベン チ傾斜型	日本エアテック BLB-1306	1	1,092,000	1,092,000	2013/11/6	東京理科大学
ダイレクトヒートCO <sub>2</sub> インキュベータ	Thermo Forma 310 184L	2	750,750	1,501,500	2013/11/8	東京理科大学
高性能フローサイト メーター	ミルテニー-MACS Quant Analyzer	1	9,334,500	9,334,500	2014/2/17	東京理科大学
自動磁気細胞分離 装置	autoMACS Pro Starting Kit	1	2,544,150	2,544,150	2014/2/17	東京理科大学