

## 研究助成 2019 –呼吸器・アレルギー領域–

### 研究成果報告書（最終） <概要>

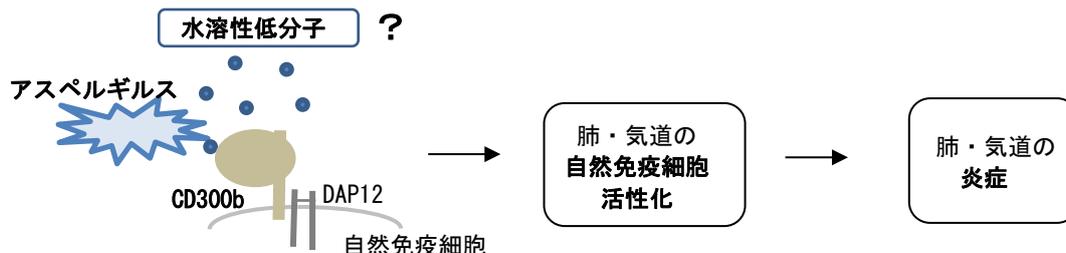
<b>所 属</b>	順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター
<b>氏 名</b>	伊沢 久未
<b>研究テーマ</b>	活性化型受容体による喘息病態制御の新規機序解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
(図表、写真などの貼付を含む)

**【研究目的】** 活性化型受容体 (CD300b・CD300e) がダニや真菌などに含まれる特定の分子を認識する可能性を検証し、活性化型受容体が気道炎症・喘息の病態を制御する新規機序を解明することである。

**【研究手法】** 野生型・CD300b 欠損・CD300e 欠損マウスに対してダニの粗抗原や真菌 (アスペルギルスなど) の死菌などを経気道投与して、気道・肺の炎症 (病態) を比較解析した。活性化型 CD300 のリガンド分子を同定するため、活性化型 CD300 の細胞外領域を利用する結合・レポーターアッセイを実施した。

**【研究成果】** ダニの粗抗原の経気道投与による気道・肺の炎症は CD300b や CD300e の欠損により減弱した。一方、真菌として *Aspergillus niger* の分生子 (死菌) を経気道投与したところ、CD300b 欠損マウスでは気道・肺の炎症が強く抑えられた。実際、CD300b 欠損マウスの肺胞洗浄液の総細胞 (好中球など) 数、炎症性サイトカイン・ケモカイン量は顕著に少なく、気道・肺における炎症細胞浸潤も軽微であった。さらに、CD300b の細胞外領域を利用する結合・レポーターアッセイの結果から、CD300b は *Aspergillus niger* の分生子 (死菌) を認識する可能性が示唆された。そこで、CD300b による真菌認識と気道・肺炎症の制御機構に焦点を当てて解析を続けた。加熱処理された様々な真菌 (死菌) のライブラリーを入手して、同様の解析を行った結果、マウス及びヒトの CD300b は *Aspergillus niger* を含むすべての *aspergillus* 属や一部の他の糸状菌を認識することが判明した。他方、*candida* 属、*cryptococcus* 属、*trichosporon* 属 などの真菌を認識しないことが確認された。そこで、比較的安価で大量に購入できる *Aspergillus fumigatus* の acetone/phenol 処理済みの死菌 (Greer MY3) を用いて、CD300b リガンドの同定を試みた。様々な処理により検討を重ねた結果、Greer MY3 の水溶性分画 (おおよそ分子量 3kD 以下) に CD300b リガンドの存在が示された。DNA、RNA、タンパク、脂質、既知の多糖や糖脂質 ( $\beta$ -glucan,  $\alpha$ -mannan, chitin, nigeran, LPS など) は CD300b リガンドとして否定された。また、この水溶性分画は CD300b 依存的にマウス骨髄由来樹状細胞を活性化した。現在、HPLC や質量分析装置を利用して、この CD300b リガンド分子を同定中である。



**【考察と今後の課題】** アスペルギルス属真菌の産生する水溶性低分子が自然免疫細胞の CD300b リガンドとして作用し、気道・肺の炎症を制御すると考えられた。今後、このリガンド分子を同定し、生理的作用を明確にすることを旨とする。アスペルギルス属真菌が喘息を含む呼吸器疾患の病態形成に重要な役割を演じることを考慮すると、本研究は関連疾患の診断や治療法開発に直結すると予想される。

## 研究助成 2019 –呼吸器・アレルギー領域–

## 研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所 属	順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター
氏 名	伊沢 久未

## 1. 論文発表実績

- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 論文 PDF 添付ありとなしに分けてリストを作成のこと。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。  
なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Yasudo H, Ando T, Maehara A, Ando T, <u>Izawa K</u> , Tanabe A, Kaitani A, Nomura S, Seki M, Yoshida K, Oda H, Okamoto Y, Wang H, Kamei A, Kojima M, Kimura M, Uchida K, Nakano N, Kaneko J, Ebihara N, Hasegawa K, Shimizu T, Takita J, Ogawa H, Okumura K, Ogawa S, Tamura N, Kitaura J: A Possible Association Between a Nucleotide-Binding Domain LRR-Containing Protein Family PYD-Containing Protein 1 Mutation and an Autoinflammatory Disease Involving Liver Cirrhosis. Hepatology. 2021 (in press). (査読あり)
2	Uchida S, <u>Izawa K</u> , Ando T, Yamada H, Uchida K, Negishi N, Kaitani A, Maehara A, Nagamine M, Kamei A, Takamori A, Maeda K, Nakano N, Shimizu T, Ogawa H, Okumura K, Nagahara A, Watanabe S, Kitaura J: CD300f is a potential therapeutic target for the treatment of food allergy. Allergy. 75: 471-474, 2020. (査読あり)
3	<u>Izawa K</u> , Kaitani A, Ando T, Maehara A, Nagamine M, Yamada H, Ando T, Ide T, Matsuzawa M, Okamoto Y, Yin E, Fukase S, Wang H, Kamei A, Uchida S, Maeda K, Nakano N, Uchida K, Tamura N, Ikeda K, Ebihara N, Shimizu T, Voehringer D, Roers A, Ogawa H, Okumura K, Kitaura J: Differential lipid recognition by mouse versus human CD300f, inhibiting passive cutaneous anaphylaxis, depends on a single amino acid substitution in its immunoglobulin-like domain. J Invest Dermatol. 140: 710-713, 2020. (査読あり)
4	Fukase S, Ando T, Matsuzawa M, Kimura M, Sone Y, <u>Izawa K</u> , Kaitani A, Kamei A, Kojima M, Nakano N, Maeda K, Shimizu T, Ogawa H, Okumura K, Nishiyama N, Murakami A, Ebihara N, Kitaura J: Pollen shells and soluble factors play non-redundant roles in the development of allergic conjunctivitis in mice. Ocul Surf. 2021 (in press). (査読あり)
5	Takasato Y, Kurashima Y, Kiuchi M, Hirahara K, Murasaki S, Arai F, <u>Izawa K</u> , Kaitani A, Shimada k, Saito Y, Toyoshima S, Nakamura M, Fujisawa K, Okayama Y, Kunisawa J, Kubo M, Takemura N, Uematsu S, Akira S, Kitaura J, Takahashi T, Nakayama T, Kiyono H: Orally desensitized mast cells form a regulatory network with Treg cells for the control of food allergy. Mucosal Immunol. 14: 640-651, 2021. (査読あり)

6	Yoneyama T, Nakano N, Hara M, Yamada H, <u>Izawa K</u> , Uchida K, Kaitani A, Ando T, Kitaoura J, Ohtsuka Y, Ogawa H, Okumura K, Shimizu T: Notch signaling contributes to the establishment of sustained unresponsiveness to food allergens by oral immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 147: 1063-1076, 2021.(査読あり)
7	<u>伊沢久未</u> 、 <u>貝谷綾子</u> 、 <u>北浦次郎</u> ： アレルギー疾患と抑制化受容体(特集:抑制化受容体と免疫応答) 炎症と免疫。29：13-18、2021。(査読なし)
8	<u>貝谷綾子</u> 、 <u>伊沢久未</u> 、 <u>内田志野</u> 、 <u>亀井杏菜</u> 、 <u>前原明絵</u> 、 <u>安藤智暁</u> 、 <u>北浦次郎</u> ： CD300f 分子とアレルギー（解説） 臨床免疫・アレルギー科。75：218-225、2021(査読なし)
9	<u>内田志野</u> 、 <u>伊沢久未</u> 、 <u>安藤智暁</u> 、 <u>貝谷綾子</u> 、 <u>北浦次郎</u> ： CD300 は食物アレルギーの治療標的となりうる 臨床免疫・アレルギー科。74：398-405、2020(査読なし)
10	<u>伊沢久未</u> 受容体 CD300f とリガンド脂質による皮膚アレルギー抑制機序 皮膚科ポータルサイト Dermatology Today 最新海外論文紹介 2020-04-28(査読なし)

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2021年 6月5日 (ハイブリッド開催)	第7回総合アレルギー講習会 アレルギー疾患の病態生理最前線（招待講演） 伊沢久未、北浦次郎 ペア型免疫受容体によるアレルギー疾患の制御メカニズム
2	2020年 12月11~13日 (Web開催)	第45回日本研究皮膚科学会 学術大会・総会 Ayako Kaitani, <u>Kumi Izawa</u> , Tomoaki Ando, Akie Maehara, Moe Matsuzawa, Taiki Ando, Takuma Ide, Yoko Okamoto, Saaya Fukase, Mayuki Kojima, Anna Kamei, Hexing Wang, Ko Okumura, Jiro Kitaura Differential lipid recognition by mouse vs human CD300f, inhibiting IgE- mediated anaphylaxis, depends on a single amino acid substitution.
3	2020年 11月14日 (Web開催)	第138回薬理学会近畿部会 シンポジウム1（招待講演） 「免疫アレルギー疾患の克服に向けた新しい創薬ターゲット」 伊沢久未、北浦次郎 AS1-3 抑制型受容体 CD300f による即時型アレルギーの抑制機序
4	2020年 9月17~20日 (Web開催)	第69回日本アレルギー学会学術大会 [JSA/WAO Joint Congress 2020] Ayako Kaitani, <u>Kumi Izawa</u> , Tomoaki Ando, Akie Maehara, Enzhi Yin, Moe Matsuzawa, Taiki Ando, Takuma Ide, Yoko Okamoto, Saaya Fukase, Mayuki Kojima, Anna Kamei, Hexing Wang, Ko Okumura, Jiro Kitaura Differential lipid recognition by mouse versus human CD300f, inhibiting IgE- and mast cell-dependent anaphylaxis, depends on a single amino acid substitution in its immunoglobulin-like domain
5	2020年 9月17~20日 (Web開催)	第69回日本アレルギー学会学術大会 [JSA/WAO Joint Congress 2020] Nobuhiro Nakano, Toshiyuki Yoneyama, Mutsuko Hara, Hiromichi Yamada, <u>Kumi Izawa</u> , Koichiro Uchida, Ayako Kaitani, Tomoaki Ando, Jiro Kitaura, Yoshikazu Ohtsuka, Toshiaki Shimizu, Hideoki Ogawa, Ko Okumura Establishment of sustained unresponsiveness to food allergens by oral immunotherapy is prevented by inhibition of Notch signaling.

6	2020年 9月 17~20日 (Web開催)	第 69 回日本アレルギー学会学術大会 [JSA/WAO Joint Congress 2020] Tomoaki Ando, Saaya Fukase, Moe Matsuzawa, Ayako Kaitani, <u>Kumi Izawa</u> , Ko Okumura, Akira Murakami, Nobuyuki Ebihara, Jiro Kitaura Topical administration of particulate pollens induces IL-33- and mast cell-dependent eosinophilic conjunctivitis in mice.
7	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 (日本免疫学会研究奨励賞ポスター) <u>伊沢久未</u> ヘア型免疫受容体 CD300 によるマスト細胞の FcεRI シグナル制御機構の解明
8	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 (口頭発表) <u>Kumi Izawa</u> , Ayako Kaitani, Tomoaki Ando, Akie Maehara, Takuma Ide, Moe Matsuzawa, Saaya Fukase, Anna Kamei, Taiki Ando, Nobuhiro Nakano, Ko Okumura Jiro Kitaura Mast cell- and IgE-dependent anaphylaxis is regulated by the interaction between inhibitory LMIR3/activating LMIR7 and specific lipids
9	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 Ayako Kaitani, <u>Kumi Izawa</u> , Tomoaki Ando, Akie Maehara, Enzhi Yin, Moe Matsuzawa, Saaya Fukase, Hexing Wang, Keiko Maeda, Nobuhiro Nakano, Ko Okumura, Jiro Kitaura Differential lipid recognition by mouse versus human CD300f, inhibiting IgE-mediated mast cell activation, depends on a single amino acid substitution in its immunoglobulin-like domain
10	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 Taiki Ando, Akie Maehara, Tomoaki Ando, <u>Kumi Izawa</u> , Ayako Kaitani, Enzhi Yin, Takuma Ide, Keiko Maeda, Nobuhiro Nakano, Naoto Tamura, Ko Okumura, Jiro Kitaura Exaggerated inflammasome activation by a novel NLRP1 mutant derived from a rare disease with severe liver fibrosis
11	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 Yoko Okamoto, Ayako Takamori, <u>Kumi Izawa</u> , Tomoaki Ando, Ayako Kaitani, Akie Maehara, Enzhi Yin, Hiromichi Yamada, Hexing Wang, Nobuhiro Nakano, Ko Okumura, Jiro Kitaura Identification of inhibitory mechanisms in pseudo-allergy involving Mrgprb2/MRGPRX2-mediated mast cell activation
12	2019年 12月 11~13日	第 48 回日本免疫学会 Anna Kamei, Shino Uchida, Hiromichi Yamada, <u>Kumi Izawa</u> , Tomoaki Ando, Naoko Negishi, Akie Maehara, Ayako Kaitani, Yoko Okamoto, Nobuhiro Nakano, Ko Okumura, Jiro Kitaura An inhibitory receptor CD300f inhibits the pathogenesis of OVA-induced food allergy in mice

### 3. 投稿、発表予定（投稿中の論文も含める）

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年12月 投稿予定	Immunity Izawa K et al., "Positive and negative regulation of mast cell activation by lipid-recognizing CD300 receptors"
2		
3		
4		