

皮膚型マスト細胞モデルの確立とその解析

田中 智之

A Model Culture System for Cutaneous Mast Cells

Satoshi TANAKA

Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences,
Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan

(Received September 7, 2010)

Mast cells originate from hematopoietic stem cells and undergo terminal differentiation in the tissues, in which they are ultimately resident. Heterogeneity of tissue mast cells is, therefore, one of the key concepts for a better understanding of immune modulation by mast cells. Since no appropriate culture model has been developed for tissue mature mast cells, it was difficult to investigate the tissue-specific functions of mast cells. We established a novel cutaneous mast cell model by modifying the previously reported co-culture system with fibroblastic cell line. This model shares many characteristics with cutaneous mast cells, such as staining properties, sensitivity to cationic secretagogues, and higher levels of granule histamine and proteases. We extracted the candidate genes that should regulate differentiation and functions of mast cells by analyses of the gene expression profiles during the co-culture period. We further investigated the functions of cluster of differentiation 44 (CD44), which is the primary receptor of hyaluronan in mast cells, since CD44 was up-regulated during the co-culture period. Fluorescence study revealed that mast cells expressing CD44 were bound to the extracellular matrix containing hyaluronan and lack of CD44 impaired proliferation of the co-cultured mast cells. In the *CD44*^{-/-} mice, the number of cutaneous mast cells was significantly decreased. Reconstitution analyses with the mast cell deficient strain revealed that CD44 expressed in mast cells should be required in the proliferation in the cutaneous tissues. In the next phase of mast cell research, it might become increasingly important to focus on the heterogeneity of tissue mast cells.

Key words—mast cell; microarray; differentiation; cluster of differentiation 44 (CD44); hyaluronan

1. はじめに

マスト細胞は、即時型アレルギーや寄生虫感染防御の主要なエフェクター細胞として認識されてきたが、近年の研究を通じて、より幅広い免疫応答に係わるモジュレーターであることが次第に認識されるようになった。実際、生体内ではマスト細胞は全身の様々な組織に分布するが、それらのマスト細胞の個々の生理的な機能に関しては不明であり、現在少しずつ解明されている段階である。マスト細胞は骨髄の造血幹細胞に由来するが、循環血中にはマスト細胞の要件を満たす細胞は検出されない。すなわち、マスト細胞は前駆細胞として骨髄を遊離し、分

布組織中へと浸潤した後、最終的な分化を遂げる (Fig. 1)。¹⁾ このことは、組織中のマスト細胞はその分化過程において周辺の微小環境の影響を強く受けることを意味しており、成熟したマスト細胞の機能は分布する組織の環境に対応してヘテロ性を持つことが推察される。後述するように、組織の成熟マスト細胞はその染色性や刺激に対する応答性からこれまで2種に大別されてきたが、実際にはさらに細かな亜集団が存在すると考えられる。近年、マスト細胞欠損マウスを用いて個体レベルで次々と明らかにされているマスト細胞の機能をさらに解析するためには、こうした分布部位によるマスト細胞のヘテロ性を反映するモデル培養系の開発が欠かせないが、適当なモデルはいまだ確立されていない。

マスト細胞は IgE の高親和性受容体である FcεRI と、stem cell factor (SCF) の受容体である c-kit の両者を発現する細胞として定義される。特に即時

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 (薬学系) 生体機能化学 (〒700-8530 岡山市北区津島中 1-1-1)
e-mail: tanaka@pharm.okayama-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 130 年会シンポジウム S53 で発表したものを中心に記述したものである。

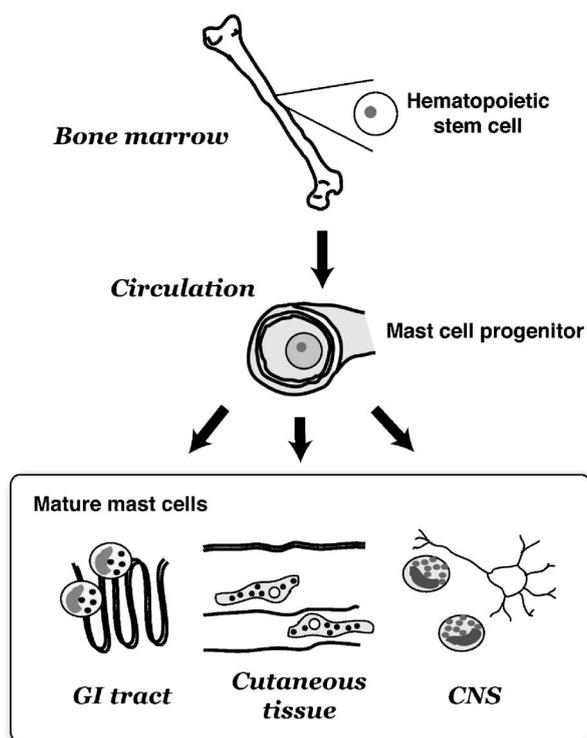


Fig. 1. Differentiation of Mast Cells

Mast cells are the progeny of hematopoietic stem cells. Since mast cells are not detected in the circulation, it is believed that mast cell-committed progenitor cells are liberated from the bone marrow and that terminal differentiation of mast cells should occur in the tissues, in which they are ultimately resident. Tissue mast cells, therefore, exhibit diverse phenotypes that reflect their microenvironment.

型アレルギーの発症という観点からは、IgEを介する特異抗原によるFcεRIの架橋反応により惹起されるマスト細胞活性化のプロセスが注目されてきた。しかしながら、マスト細胞には多種類の受容体が発現しており、様々な刺激により活性化応答が惹起される。例えば、皮膚のマスト細胞は神経ペプチドであるサブスタンスPに反応し、脱顆粒反応を示す。リポ多糖(LPS)やペプチドグリカンといったToll様受容体リガンドは、脱顆粒反応は惹起しないが、様々なサイトカイン産生を惹起する。こうした知見を総合すると、マスト細胞の機能は抗原抗体反応による活性化ばかりではなく、むしろIgE非依存的な機能もたくさんあることが推察される。²⁾

マスト細胞の活性化では様々な応答が引き起こされるが、速やかなものとしては、脱顆粒が挙げられる。脱顆粒ではヒスタミンや顆粒内の中性プロテアーゼの細胞外への遊離が起こる。また、ホスホリパーゼA₂の活性化によりアラキドン酸が遊離する

ことにより、プロスタグランジンD₂やロイコトリエンC₄が産生される。さらに転写応答を介して、種々のサイトカイン、あるいはケモカイン、増殖因子が産生される。マスト細胞は、T細胞に匹敵するレベルの多様なサイトカインの供給源であり、TNF-αやIL-6といった炎症性サイトカイン以外にも、IL-4やIFN-γといった獲得免疫を制御するサイトカイン、さらにはTGF-βやIL-10のような免疫抑制の作用を持つサイトカインまで、多彩なレパートリーのサイトカインを産生する能力を有している。近年、IgEを介する抗原抗体反応では、刺激の強さに応じてサイトカイン産生のプロファイルが変化することが報告されており、マスト細胞が刺激の強弱に応じて適切なパターンのサイトカイン産生を行うことが予想されている。³⁾ 以上のようなマスト細胞機能の特徴と、局所におけるマスト細胞のヘテロ性をあわせて考慮すると、局所のマスト細胞は、微小環境に応じた最終分化を遂げることで局所において反応すべき環境変化に対応するための受容体を発現し、サイトカインやその他のメディエーターの産生を通じて環境変化に対して応答する、一種の「センサー細胞」として機能していることが推察される (Fig. 2)。ここでも、どのような受容体サブセットを有し、またどのようなメディエーターを産生するかは、局所におけるマスト細胞の分化にある程度規定されていることが予想される。

こうした背景の下、筆者は成熟マスト細胞の詳細な機能解析を行うことが可能なモデルを得ることを目標として研究を行い、皮膚組織の成熟マスト細胞に類似したモデルを確立することに成功した。本稿では、このモデルの確立とその評価、これを用いて同定したマスト細胞の機能発現を制御する可能性のある遺伝子群に関する検証結果について述べる。

2. 皮膚型マスト細胞モデルの確立

生体内に分布するマスト細胞はこれまで2種に大別されてきた。粘膜型マスト細胞(MMC: mucosal mast cell)は寄生虫感染時に消化管粘膜に大量に動員されるマスト細胞を指し、その誘導にはT細胞由来のサイトカイン、特にIL-3が重要な役割を果たしている。IL-3遺伝子欠損マウスでは、組織のマスト細胞は正常に分布するが、寄生虫感染時の粘膜へのマスト細胞の集積はみられない。⁴⁾ 消化管粘膜には非感染時にもわずかではあるが、マスト細胞

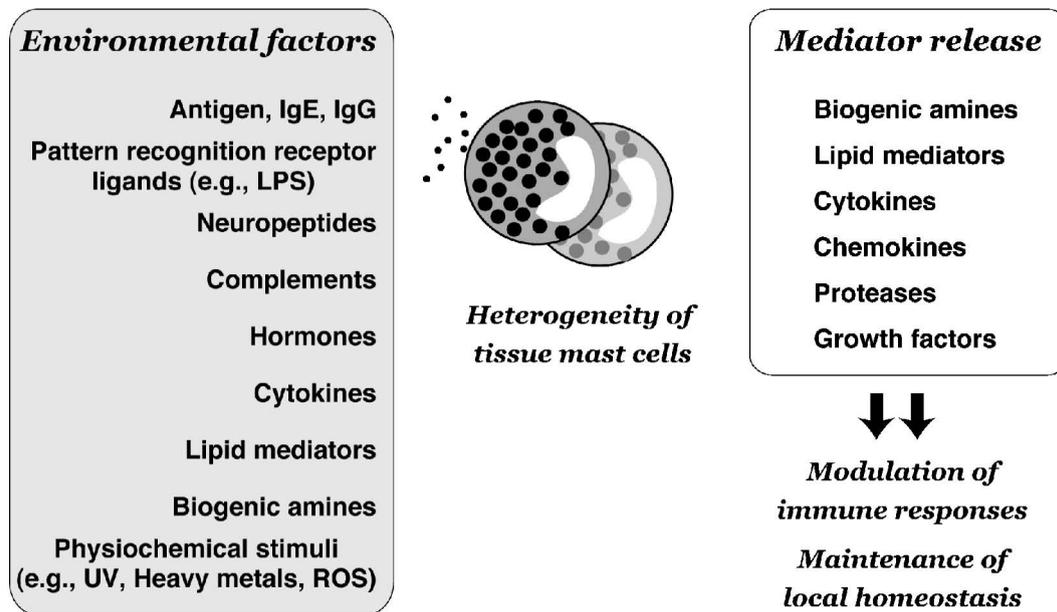


Fig. 2. Tissue Mast Cells Play Critical Roles as the Local Sensors Both in Modulation of Immune Responses and in Maintenance of Local Homeostasis

Mast cells express a wide variety of surface receptors for a diverse array of the environmental factors described. Mast cells have a potential to produce various mediators in response to these environmental stimuli. It depends on the tissue distribution of mast cells which kinds of receptor combination are expressed and which kinds of mediators are released in response to the microenvironmental factors. Tissue mast cells should contribute to modulation of local immune responses and to maintenance of local homeostasis.

が分布しており、これらも比較的感染時と近い性質を示すことから MMC に分類される。一方、それ以外の常在性のマスト細胞の多くは、結合組織型マスト細胞 (CTMC: connective tissue type mast cell) に分類される。CTMC は生体内に広く分布するが、皮膚マスト細胞や腹腔マスト細胞が代表例として解析されることが多い。CTMC の分化には SCF-c-kit のシグナル伝達系の活性化が必須であり、c-kit 遺伝子に変異を有するマウスの一部はマスト細胞欠損マウスとして利用される。⁵⁾ 両者は様々な指標から区別することができる。例えば、サフラニン染色は両者を区別する際に用いられるが、これは MMC では顆粒内のプロテオグリカンがコンドロイチン硫酸主体で硫酸化プロテオグリカンの含量が低い一方で、CTMC ではヘパラン硫酸を主体に硫酸化プロテオグリカンの含量が高い (ヘパリンの含量が高い) という相違があるためである。MMC はヒスタミン合成能が高いが顆粒内含量は低く、CTMC は逆に合成能は低い含量は高い。また、両者はいずれも IgE を介した抗原抗体反応により活性化されるが、神経ペプチドやポリカチオンに対する応答性は CTMC でしか認められない (Fig. 3)。⁶⁾ 後述するように、CTMC の刺激応答性を反映する培養

モデルがこれまで存在しなかったことから、IgE 非依存性の刺激に対するマスト細胞の応答やその機序に関する知見は限られている。こうした分類はマウスにおける知見に基づいているが、ヒトでも生体内のマスト細胞は 2 つに分類されている。ヒトの場合は、顆粒内のプロテアーゼの発現により区別されるが、トリプターゼのみを発現する MC_T が MMC、トリプターゼとキマーゼの両方を発現する MC_{TC} が CTMC にそれぞれ概ね対応すると考えられている。

これまでのマスト細胞研究におけるアプローチは大きく 2 つに分類できる。1 つは培養細胞を用いたもので、マスト細胞株や初代培養マスト細胞を用いて、抗原抗体反応による脱顆粒のメカニズムや、そのシグナル伝達機構が解析されてきた。マスト細胞株には様々なものがあるが、有名なもののほとんどは c-kit のチロシンキナーゼが常時活性化型となった変異株であり、それ以外の多くは IL-3 依存性の細胞株である。また、骨髓細胞を IL-3 存在下、約 1 ヶ月培養することにより得られる IL-3 依存性骨髓由来培養マスト細胞 (BMDC) は、時間はかかるものの簡便に FcεRI, c-kit 陽性のマスト細胞集団を得ることができる点で優れた初代培養系であり、

	Mucosal MC (MMC)	Connective tissue type MC (CTMC)
Proteoglycans	Chondroitin sulfate	Heparan sulfate (Heparin)
Histamine content	Low	High
Arachidonate metabolites	LTC ₄ > PGD ₂	PGD ₂ > LTC ₄
Secretagogues	IgE/Ag	IgE/Ag Compound 48/80 neuropeptides

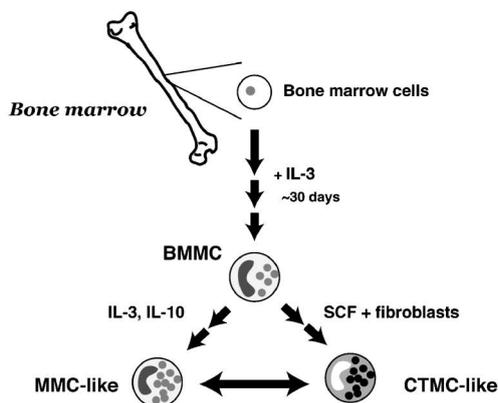


Fig. 3. Primary Culture Models for Mast Cells

IL-3 dependent bone marrow-derived cultured mast cells (BMMCs), which are the immature mast cell model, can be obtained by prolonged culture of murine bone marrow cells in the presence of IL-3. Further culture of BMMCs in the presence of combinations of several cytokines provides with more mature mast cell models. Tissue mast cells can be largely classified into two categories: one is mucosal type mast cells, which mainly contains chondroitin sulfate and low levels of granule histamine, and favors leukotriene C₄ production, and the other is connective tissue type mast cells, which contains heparan sulfate and favors prostaglandin D₂ production. It should be noted that CTMC (connective tissue type mast cell)-like MC has potentials to respond to various secretagogues, such as compound 48/80 and neuropeptides in addition to IgE-mediated antigen stimulation.

マスト細胞研究において数多くの成果を生み出したフォーマットである。もう1つのアプローチは、マスト細胞欠損マウスを用いたものである。WBB6F1-*Kit*^{W/W-V}やC57BL6-*Kit*^{W-sh/W-sh}といった系統は、c-kit 遺伝子に変異を有し、組織のマスト細胞を欠損していることが明らかにされている。c-kit はマスト細胞の増殖、分化に大きな役割を果たすだけでなく、生殖細胞の成熟や赤血球の分化にも働くことから、これらの変異マウスを用いて得られた実験結果の解釈には注意が必要であるが、C57BL6-*Kit*^{W-sh/W-sh}マウスではc-kit 変異の影響が比較的マスト細胞に限定していることが報告されている。マスト細胞欠損マウスを用いた系では、再構成実験と呼ばれる手法がマスト細胞の関与を証明するパワフルな方法としてしばしば用いられる。⁷⁾ 再構成実験では、マスト細胞欠損マウスに同系のBMMCが移植される。静脈注射で移植される場合は全身性の再構成が、局

所の皮内注射で移植される場合は部分的な再構成が達成される。移植されたBMMCの一部は生着し、5-10週間程度で周辺環境に適応したマスト細胞へと成熟する。遺伝子欠損マウス骨髄由来のBMMCをこの系と組み合わせることにより、マスト細胞のどの機能が個体レベルの応答に関与するかというところまで踏み込んだ解析が可能となっている。これら2種のアプローチにより、生体内のマスト細胞の機能の理解は格段に進展したが、一方で手法としての限界もある。例えば、培養モデルはいずれも未成熟なマスト細胞の性質を反映しており、成熟マスト細胞、特にCTMCに特有の機能については再現できない。また、再構成モデルは強力であるが、組織の成熟マスト細胞が具体的にどのような応答を介して特定の生理機能と係わるかという詳細までは解析することができない。遺伝子欠損マウスBMMCの再構成で得られる情報は多いが、実験者が予想できない因子の関与をこの方法で証明することは不可能である。そこで筆者は、第三のアプローチとして、両者の中間的な実験系、すなわち組織マスト細胞の性質をよく反映した培養モデルの開発を試みた。

CTMCのモデルとしてはこれまでにいくつかの検討が行われており、マウスの胎仔皮膚組織やES細胞からの調製が報告されている。^{8,9)} 一方、古典的な手法として、BMMCを線維芽細胞株Swiss 3T3とSCF存在下共培養するという方法がある。¹⁰⁾ 後者は未成熟なマスト細胞集団をいったん純化させてから、共培養の過程を経てCTMC様の細胞を得ることから、マスト細胞の分化のプロセスを追跡し易いというメリットがある。一方、フィーダーである線維芽細胞とマスト細胞は相互の細胞増殖に影響を与える¹¹⁾ことから、培養条件の小さなゆらぎが成熟過程に大きな影響を与えてしまい、再現性が低いことが問題であった。筆者はフィーダー細胞をmitomycin Cにより処理し、細胞増殖を停止させることにより、再現性の高い培養系を確立することに成功した。¹²⁾ BMMCはサフラニン染色陰性であるが、この系で16日間共培養することにより、顕著な細胞増殖が認められ、80%以上の細胞がサフラニン染色陽性の成熟マスト細胞へと分化した [Fig. 4 (A)]. ヒスタミン含量や、顆粒のプロテアーゼ活性はいずれも経時的に増大し、マスト細胞の成熟が進行していることが確認された。CTMCの特徴の

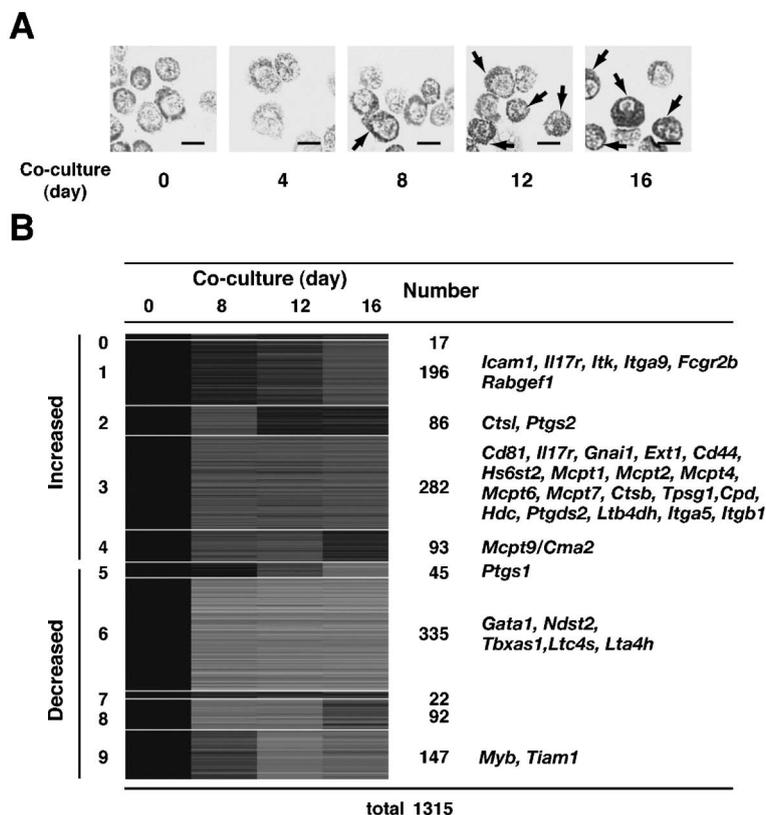


Fig. 4. CTMC-like MC Model

CTMC-like MCs can be obtained by prolonged co-culture of BMBCs with Swiss 3T3 fibroblasts in the presence of stem cell factor. A) Co-cultured mast cells were stained by the Alcian blue/Safranin-O staining. The number of Safranin-positive mast cells (indicated by the arrows) was gradually increased during the co-culture period. B) The gene expression profile of the cultured mast cells during the co-culture period was determined by microarray analyses. The number of genes, of which expression levels were changed greater than 2-fold during the co-cultured period, was 1315. The extracted genes were classified into ten clusters based on the expression patterns.

1つはサブスタンス P やポリカチオンに対する応答性であるが、いずれの刺激に対しても経時的に脱顆粒応答が亢進することが明らかとなった。従来の手法と比較して、筆者らの開発した培養法は極めて再現性が高く安定した結果を得ることができた。BMBC が組織への移植により成熟するモデルを考慮すると、共培養における CTMC 様の細胞への分化過程は、組織におけるマスト細胞の成熟過程をある程度反映するものであることが推察される。そこで、次に共培養過程におけるマスト細胞の遺伝子発現レベルの変化について、マイクロアレイを用いて網羅的に解析した。

3. マスト細胞の成熟過程における遺伝子発現変化の解析

マイクロアレイ解析では約 20000 の遺伝子を搭載したアレイを用いたが、共培養期間において 2 倍以上の発現変動を示す遺伝子を抽出したところ、1315 の遺伝子が得られた。それらをさらに発現変動のパ

ターンに基づき、10 のクラスターに分類した [Fig. 4(B)].

マスト細胞の成熟過程において認められる変化と、マイクロアレイ解析の結果を比較するとよく一致した対応関係が認められた。例えば、ヒスタミン合成の律速酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素 (*Hdc*) やマウスマスト細胞プロテアーゼファミリー (*Mcpt*)、ヘパラン硫酸の生合成に係わる酵素 (*Ext1*, *Hs6st2*) といった遺伝子が共培養により誘導される遺伝子として見い出されている。筆者らはこうした結果から、今回得られた遺伝子群にはマスト細胞の成熟や機能獲得の鍵となる遺伝子が多数含まれていると考えている。

マスト細胞の分化、成熟のマスター遺伝子としては、転写因子の発現変化が注目されるが、血球系細胞の分化に重要な *Gata1* や *Myb* といった遺伝子の顕著なダウンレギュレーションが起こっていることが分かった。また、IgE 依存性抗原抗体反応の抑制

に係わることが報告される分子をコードする、*Fcgr2b*, *Rabgefl*, *Cd81* といった遺伝子が成熟に伴い誘導されることが明らかとなった。抗原抗体反応は BMMC と比べて成熟マスト細胞では若干抑制されるが、その原因としてこうした遺伝子発現変化が関与する可能性が考えられる。また、最近好中球を介する炎症応答を強力に惹起することが特徴である Th17 応答においてマスト細胞もエフェクター細胞の 1 つとして機能することが報告されているが、¹³⁾ IL-17 受容体もまた共培養により発現誘導を受けることが明らかとなった。

ポリカチオンに対する脱顆粒応答は CTMC の特徴の 1 つであるが、そのメカニズムの詳細は不明である。代表的なポリカチオンである compound 48/80 を介する脱顆粒応答は、百日咳毒素処理により完全に抑制されることから、三量体 G タンパク質の G_i を介すると考えられている。マスト細胞には、 G_{i1} , G_{i2} , G_{i3} という 3 種類の G_i アイソフォームが発現しており、ラット腹腔マスト細胞では G_{i3} の関与が示唆されている。¹⁴⁾ しかしながら、共培養により誘導される遺伝子としては *Gnail* が抽出され、イムノブロットを用いた解析から共培養系では $G_{\alpha i1}$ のみが誘導され、 $G_{\alpha i2}$, $G_{\alpha i3}$ の発現量には変化がないことが明らかとなった。¹²⁾ 機能的な評価を行う必要があるが、マウスの系では G_{i1} がポリカチオンによる脱顆粒応答に重要な働きをしているのかもしれない。

4. マスト細胞の成熟過程における CD44 の誘導とその機能

共培養の過程で発現変動する遺伝子群について機能解析を行う中で、筆者らはまず CD44 に着目した。CD44 のマスト細胞における発現についてはいくつかの報告があるが、その機能については不明であった。また、CD44 はヒアルロン酸の主要な受容体であるが、皮膚はヒアルロン酸に富む組織であり、皮膚組織に分布するマスト細胞とヒアルロン酸との相互作用を解析することは興味深いテーマである。

マイクロアレイによる解析では、CD44 は共培養により発現が増大する遺伝子として抽出されたが、実際にイムノブロットや FACS を用いた解析でもこの傾向は確認された。¹⁵⁾ BMMC のレベルでも CD44 の細胞表面への発現は認められたが、蛍光標識をしたヒアルロン酸の結合はほとんど認められな

かった。BMMC を Swiss 3T3 線維芽細胞株と SCF 存在下、共培養するとマスト細胞のクラスターが形成される。Swiss 3T3 細胞はヒアルロン酸合成酵素 2 (HAS2: hyaluronic acid synthase 2) を発現しており、構成的にヒアルロン酸を分泌する。そこで、培養系にヒアルロン酸分解酵素を添加したところ、クラスターを形成していたマスト細胞は完全に分散し、ヒアルロン酸を成分とする細胞外マトリックスが形成されていたことが明らかとなった。蛍光抗体法による解析を行ったところ、CD44 を発現するマスト細胞がヒアルロン酸により形成されたマトリックスに結合している様子を確認することができた。¹⁵⁾

そこで、CD44 遺伝子欠損マウス骨髄を用いて BMMC を調製し、共培養系におけるその性質について検討を行った。CD44 欠損 BMMC は、野生型 BMMC と比較して、様々な指標において同等であり、調べた範囲では相違点は見い出されなかった。そこで、共培養を行ったところ、野生型のみられるマスト細胞のクラスターと比較して顕著に小さなクラスターを形成することが明らかとなった。一方、野生型マスト細胞では共培養の期間に細胞数が増加するが、CD44 欠損型では野生型では CD44 の誘導が顕著な時期である 8 日目以降、ほとんど細胞数の増加が認められなかった。³H] チミジン取り込みで評価した場合も、CD44 欠損マスト細胞では有意に取り込みが低下しており、CD44 はマスト細胞の成熟に伴う増殖応答を維持するために必要であることが推察された。一方で、マスト細胞の成熟に係わる指標に関しては CD44 の欠損はほとんど影響を与えず、野生型と同様の顆粒染色性、及び刺激応答性を示すことが分かった。¹⁵⁾

CD44 欠損マウスにおけるマスト細胞数を比較したところ、皮膚組織、及び腹腔、いずれにおいても有意にマスト細胞数が減少していた。しかしながら、CD44 は角化細胞や線維芽細胞、血管内皮細胞など、マスト細胞以外にも様々な細胞種で発現しているため、欠損マウスにおけるマスト細胞数の減少がマスト細胞の増殖応答の低下のためであるかどうかは不明であった。そこで、上述のマスト細胞再構成系を用いた解析を行った。組織マスト細胞を欠失する *WBB6F1-Kit^{W/W^v}* マウスの耳介組織、及び腹腔に、野生型あるいは CD44 欠損型の BMMC を移植

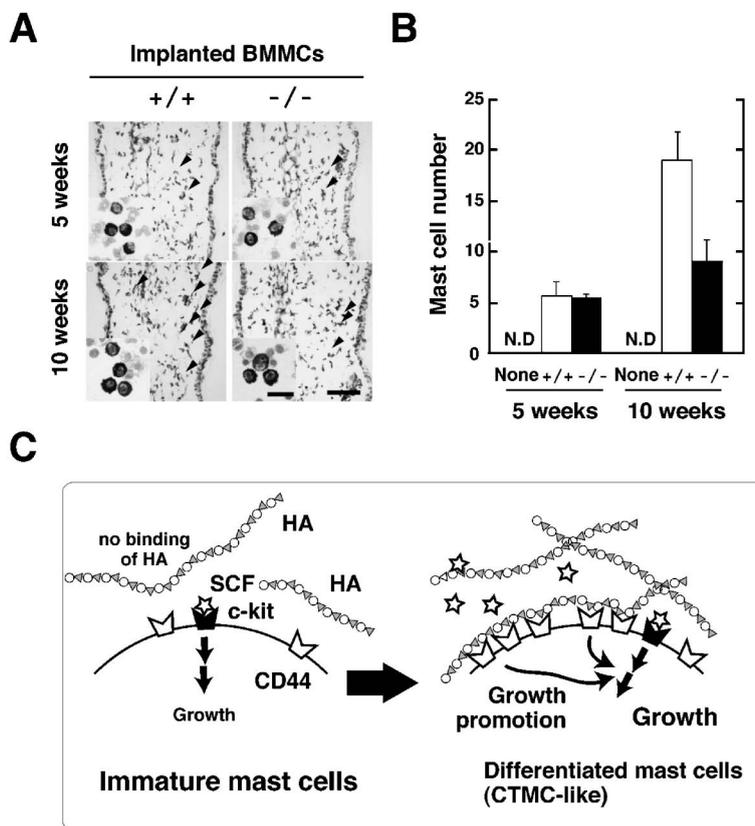


Fig. 5. CD44 Regulates the Murine Cutaneous Mast Cell Number

A, B) BMBCs were implanted in the cutaneous tissues or peritoneal cavity of W/W^V mice, which genetically lack tissue mast cells, and the number of mast cells was determined by the acidic Toluidine blue staining. Five weeks after the initial implantation, similar numbers of mast cells were found in the cutaneous tissues and peritoneal cavity (inset) both in the mice implanted with the wild type BMBCs and in those with the $CD44^{-/-}$ BMBCs. Ten weeks after the implantation, the number of mast cells was significantly increased in the cutaneous tissues implanted with the wild type BMBCs, not in those with $CD44^{-/-}$ BMBCs. C) Induction of CD44 during the co-culture period might enhance hyaluronan binding to CD44, which promotes the surface CD44 clustering and augments c-kit-mediated proliferation of cultured mast cells.

し、5週間後、あるいは10週間後に組織のマスト細胞について検討を行った。その結果、腹腔に移植した場合は、野生型と $CD44$ 欠損型とは大きな違いはなく、一部の BMBC が生着し、腹腔マスト細胞に類似した染色性を示すマスト細胞が検出された。一方、皮膚組織に移植した場合、皮膚組織に生着したマスト細胞数は移植後5週間では野生型と $CD44$ 欠損型とで変わらないが、移植後10週間では、野生型の皮膚マスト細胞数が増加するのに対して、 $CD44$ 欠損型ではほとんどマスト細胞数の変化はみられなかった [Figs. 5 (A) and (B)].¹⁵⁾ 以上の結果から、皮膚組織においてマスト細胞は成熟の過程で増殖し、そのプロセスに $CD44$ が関与していると考えられる。

$CD44$ は多機能な一回膜貫通タンパク質であり、血球系細胞における機能に限定しても、遊走、接着、サイトカイン産生、増殖といった様々な応答に

関与することが報告されている。¹⁶⁾ $CD44$ の細胞内ドメインは比較的短い配列であるが、ERM (ezrin-radixin-moesin) タンパク質や merlin といった細胞骨格と相互作用するタンパク質と結合することが報告されており、そのような相互作用を通じて細胞骨格に影響を与えることを通じて、 $CD44$ の機能が発現すると推察されている。ERM タンパク質と merlin の $CD44$ への結合は競合関係にあり、merlin がリン酸化されると ERM タンパク質が $CD44$ に結合する。この際に、低分子量 G タンパク質の Rac の活性化を促進するという報告があるが、¹⁷⁾ マスト細胞では c-kit の下流に Rac が位置しており、SCF 刺激による細胞増殖シグナルを媒介している。¹⁸⁾ 共培養系では、 $CD44$ が Rac の活性化を促すことを通じて、SCF によるマスト細胞の増殖を強化しているのかもしれない。

ヒアルロン酸による $CD44$ の活性化は、リガンド

として機能するヒアルロン酸の分子量によっても変化することが知られている。¹⁶⁾ 今回検討した共培養系では高分子のヒアルロン酸が主として産生されていることを確認しているが、低分子、あるいはオリゴマーのヒアルロン酸が成熟マスト細胞の機能をどのように制御するかは不明である。炎症局所や腫瘍周辺ではヒアルロン酸の分解、合成がダイナミックに起こっており、それらは CD44 を介して周辺細胞の応答に影響を与えている。関節リウマチのような慢性炎症疾患の病変部や、腫瘍の周辺部にはマスト細胞が集積することが知られているが、こうした場合は同時にダイナミックなヒアルロン酸代謝が生じている場でもある。慢性炎症疾患や腫瘍の病変部におけるマスト細胞数の制御を行う仕組みとして CD44 が機能する可能性も考えられる。

5. おわりに

現代の研究手法の発達に伴い、従来見逃されてきたマスト細胞の機能が次々と報告され、即時型アレルギーや寄生虫感染防御に加えて、自己免疫疾患や粥状動脈硬化症、肥満や糖尿病といった様々な疾患におけるマスト細胞の機能が注目されている。冒頭に述べたように、こうした疾患の機序を解明するためには、個々の病変部位におけるマスト細胞の機能を理解する必要がある。しかしながら、局所のマスト細胞に特異的な機能に関する検討は始まったばかりであり、より生体内のマスト細胞に近いモデル培養系の洗練が要請されている。また、病変部位に存在するマスト細胞は周辺の環境の影響を受けて、さらに異なる性質を持つ亜集団へと変化しているという可能性もある。ごく最近報告された、組織のマスト細胞を組織切片から単一細胞レベルでピックアップし網羅的遺伝子解析を行うというアプローチは、強力な手法であり、病変部位におけるマスト細胞の機能解明につながる成果と言える。¹⁹⁾ マスト細胞は様々な疾患、生理応答におけるモジュレーターであり、マスト細胞の機能を標的とした医薬品はこれまでも数多く報告されている。本稿で展望を述べたような新たなマスト細胞研究が、次世代の新たな創薬のヒントをもたらすことを期待している。

REFERENCES

1) Kitamura Y., *Annu. Rev. Immunol.*, **7**, 59–76 (1989).

2) Galli S. J., Nakae S., Tsai M., *Nat. Immunol.*, **6**, 135–142 (2005).

3) Gonzalez-Espinosa C., Odom S., Olivera A., Hobson J. P., Martinez M. E., Oliveira-Dos-Santos A., Barra L., Spiegel S., Penninger J. M., Rivera J., *J. Exp. Med.*, **197**, 1453–1465 (2003).

4) Lantz C. S., Boesiger J., Song C. H., Mach N., Kobayashi T., Mulligan R. C., Nawa Y., Dranoff G., Galli S. J., *Nature*, **392**, 90–93 (1998).

5) Galli S. J., Kitamura Y., *Am. J. Pathol.*, **127**, 191–198 (1987).

6) Metcalfe D. D., Baram D., Mekori Y. A., *Physiol. Rev.*, **77**, 1033–1079 (1997).

7) Grimbaldston M. A., Chen C. C., Piliponsky A. M., Tsai M., Tam S. Y., Galli S. J., *Am. J. Pathol.*, **167**, 835–848 (2005).

8) Yamada N., Matsushima H., Tagaya Y., Shimada S., Katz S. I., *J. Invest. Dermatol.*, **121**, 1425–1433 (2003).

9) Tsai M., Wedemeyer J., Ganiatsas S., Tam S. Y., Zon L. I., Galli S. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9186–9190 (2000).

10) Levi-Schaffer F., Austen K. F., Gravallesse P. M., Stevens R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 6485–6488 (1986).

11) Dayton E. T., Caulfield J. P., Hein A., Austen K. F., Stevens R. L., *J. Immunol.*, **142**, 4307–4313 (1989).

12) Takano H., Nakazawa S., Okuno Y., Shirata N., Tsuchiya S., Kainoh T., Takamatsu S., Furuta K., Taketomi Y., Naito Y., Takematsu H., Kozutsumi Y., Tsujimoto G., Murakami M., Kudo I., Ichikawa A., Nakayama K., Sugimoto Y., Tanaka S., *FEBS Lett.*, **582**, 1444–1450 (2008).

13) Nakae S., Suto H., Berry G. J., Galli S. J., *Blood*, **109**, 3640–3648 (2007).

14) Aridor M., Rajmilevich G., Beaven M. A., Sagi-Eisenberg R., *Science*, **262**, 1569–1572 (1993).

15) Takano H., Nakazawa S., Shirata N., Tamba S., Furuta K., Tsuchiya S., Morimoto K., Itano N., Irie A., Ichikawa A., Kimata K., Nakayama K., Sugimoto Y., Tanaka S., *Lab. Invest.*, **89**, 446–455 (2009).

16) Ponta H., Sherman L., Herrlich P. A., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**, 33–45 (2003).

-
- 17) Jung J. R., Kim H., Jeun S. S., Lee J. Y., Koh E. J., Ji C., *Mol. Cells*, **20**, 196–200 (2005).
- 18) Timokhina I., Kissel H., Stella G., Besmer P., *EMBO J.*, **17**, 6250–6262 (1998).
- 19) Tsuchiya S., Tachida Y., Segi-Nishida E., Okuno Y., Tamba S., Tsujimoto G., Tanaka S., Sugimoto Y., *BMC Genomics*, **10**, 35 (2009).