

# アレルギー反応に対する mEAR2 の機能的役割の解明

## 【本件のポイント】

- 世界で初めて mEAR2 欠損マウスの樹立に成功
- mEAR2 がアレルギー反応の増悪に寄与することを確認
- アレルギーの新たな治療戦略開発に期待

学校法人関西医科大学（大阪府枚方市 理事長・山下敏夫、学長・木梨達雄）耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座（教授・岩井大）Linh Manh Nguyen 大学院生と附属病院臨床検査医学センター神田晃教授らの研究チームは、附属生命医学研究所ゲノム編集部門徳弘圭造学長特命准教授と分子遺伝学部門上岡裕治講師と共に、世界で初めて mEAR2（mouse eosinophil-associated ribonuclease-2）欠損マウスの樹立に成功しました。mEAR2 は、好酸球から放出される組織障害性蛋白の一つとして知られていますが、アレルギー反応における役割は十分に解明されていませんでした。そこで、アレルギー反応モデルマウスを用いた実験において、同欠損マウスでは気道過敏性と気道炎症が誘導されないことを明らかにしました。さらに、mEAR2 は他の炎症性細胞を活性化し、アレルギー反応の増悪に寄与することを解明しました。詳しい研究概要は次ページ以降の別添資料をご参照ください。

なお、本研究をまとめた論文がアレルギー専門誌『Allergy』（インパクトファクター：12.4）に2024年2月23日に掲載されました。

## ■ 書誌情報

掲 載 誌	「Allergy」
論文タイトル	Mouse eosinophil-associated ribonuclease-2 exacerbates the allergic response DOI: 10.1111/all.16061
筆 者	Linh Manh Nguyen, Akira Kanda, Yuji Kamioka, Keizo Tokuhira, Yoshiki Kobayashi, Yasutaka Yun, Dan Van Bui, Hanh Hong Chu, Nhi Kieu Thi Le, Kensuke Suzuki, Akitoshi Mitani, Akihiro Shimamura, Kenta Fukui, David Dombrowicz, Hiroshi Iwai

## 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

## 別添資料

### <本研究の背景>

アレルギー反応が関与する疾患として、喘息、好酸球性副鼻腔炎、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどが知られています。炎症局所に集積した好酸球は、その病態形成および症状の増悪に深く関与することが明らかになっています。近年、このような好酸球性炎症をタイプ2炎症と呼ぶようになってきました。とくに好酸球性副鼻腔炎は喘息を合併することが多く、また再発することが多いため、難病に指定されています。そこで、このような病態における好酸球の機能的役割の解明、新しいバイオマーカの検索や治療戦略の開発が急務となっています。

好酸球には、強い細胞傷害性を有する顆粒タンパクが含まれています。その成分として好酸球ペルオキシダーゼ (EPO) や好酸球塩基性蛋白 (ECP) が知られており、病態形成に重要な役割を果たしています。一方、好酸球由来ニューロトキシン (EDN) は、EPO や ECP に比べ細胞傷害性は比較的少ないと考えられていますが、強い神経毒性を有しているだけでなく、樹状細胞の活性化やリモデリングにも関与することが明らかになっており (Tsudata T et al. Int Immunol. 2019; 31(1): 33-40)、炎症反応を増悪する作用があると考えられています。また、近年の臨床研究では、血中 EDN の濃度と喘息の症状の程度との間に相関があることが報告されており (Allergy Asthma Immunol Res 2019;11(3):394-405)、バイオマーカとして実臨床で応用が期待されている分子です。

しかし、喘息などのアレルギー反応に対する EDN の機能的役割に関しては、まだ十分に解明されていません。アレルギー反応における EDN の役割が十分に解明されていない原因の一つとして、動物を用いた基礎的研究が十分に検討されていなかったことが考えられます。マウスでは、ヒト EDN に相当する遺伝子として mEAR2 が同定されていますが、同遺伝子をターゲットにした遺伝子欠損マウスが樹立されていませんでした。そこで、本研究では、mEAR2 欠損マウスを樹立し、アレルギー反応マウスモデルを用いた実験に応用することで、その役割を解明する考えに至りました。mEAR2 がアレルギー反応において重要な役割に寄与することが明らかになれば、今後、EDN/mEAR2 をターゲットにした新しい生物学的製剤の開発につながることを期待されます。

### <本研究の成果>

#### 1. mEAR2 欠損マウスの樹立

mEAR2 は、2つの exon1<sup>\*1</sup> と exon2 で構成されています。本研究では、mEAR2 が機能的役割を發揮する上で重要な exon2 に着目し、同部位に融合タンパク質<sup>\*2</sup>である Cre/EGFP をノックイン<sup>\*3</sup>し、mEAR2 の機能的役割を欠損したマウスの樹立に世界で初めて成功しました (遺伝子改変マウスのコンストラクトを図1内に示しています)。mEAR2 遺伝子の近傍には、80%以上の相同性を有する遺伝子配列が複数個所認めているため、他の mEAR ファミリーの領域に間違っ

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (佐脇・林)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

推察されます。しかし、私たちが樹立した新しい mEAR2 欠損マウスでは、mEAR2 の exon2 がフュージョンタンパクに確実に置き換わり、導入されていることを確認しています。

## 2. 定常状態における mEAR2 の役割

- ・ 個体の発達能・生存率への作用： mEAR2 は、致死的な遺伝子ではなく、mEAR2 欠損と野生型マウス間において、発達能・生存率の差は認められませんでした。
- ・ 好酸球への作用： mEAR2 は、好酸球に最も強く発現しているため、mEAR2 欠損と野生型マウスの骨髄から好酸球の分化誘導し、好酸球への影響に関して検討をおこないました。結果、mEAR2 欠損と野生型マウスから誘導した好酸球において、増殖能、形態学的変化、遊走能、メディエータ産生能の差は認められませんでした。
- ・ 小括： 定常状態では、mEAR2 遺伝子は、恒常性維持に関与しないことが明らかになりました。

## 3. アレルギー反応における mEAR2 の役割

- ・ 気道過敏性： ハウスダストで全身感作し、経気道的に肺へチャレンジしたアレルギー反応マウスモデルにおいて、野生型では、メサコリン（気道収縮薬）に対する気道抵抗の増大と肺の収縮率の低下が認められましたが、mEAR2 欠損マウスでは認められませんでした。
- ・ 気道炎症： アレルギー反応マウスモデルにおいて、肺胞洗浄液中に浸潤している炎症性細胞の数は、mEAR2 欠損マウスでは、有意に低下していました。また、組織切片においても、同様の結果となりました。
- ・ IgE 産生と炎症性メディエータ<sup>\*4</sup>： 腹腔内へのハウスダストの全身感作後、血中 IgE 濃度および肺組織中の炎症性メディエータに関しては、両群に有意差は認められませんでした。肺のハウスダストへの暴露後、mEAR2 欠損マウスでは、血中 IgE 濃度と肺組織中のタイプ 2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-13) <sup>\*5</sup> は、有意に低下していました。
- ・ 小括： 以上の結果から、mEAR2 は、肺組織の炎症局所においてアレルギー反応の増悪に寄与すると推察されました。

## 4. アレルギー反応の増悪メカニズム

アレルギー反応における mEAR2 誘導性タイプ 2 サイトカインのメカニズムを検討するため、mEAR2 欠損マウスと野生型マウスから分離した好酸球と炎症性細胞の共培養をおこないました（実験方法に関しては、公開した論文をご参照ください）。結果、単独では、これらサイトカインは誘導されませんでした。共培養することでタイプ 2 サイトカインの産生が誘導されました。しかし、mEAR2 欠損マウスと由来の好酸球と炎症細胞の共培養では、この産生は誘導されませんでした。つまり、好酸球由来 mEAR2 は、炎症性細胞の活性化に関与することが推察される結果となりました。

### <本研究のまとめと展望>

本研究において、私たちは、世界で初めて mEAR2 欠損マウスの樹立に成功しました。この遺伝子改変マウスを用いたアレルギー疾患マウスモデルでは、mEAR2 がタイプ 2 炎症の病態形成に重要な役割

#### 【本件取材についてのお問合せ】

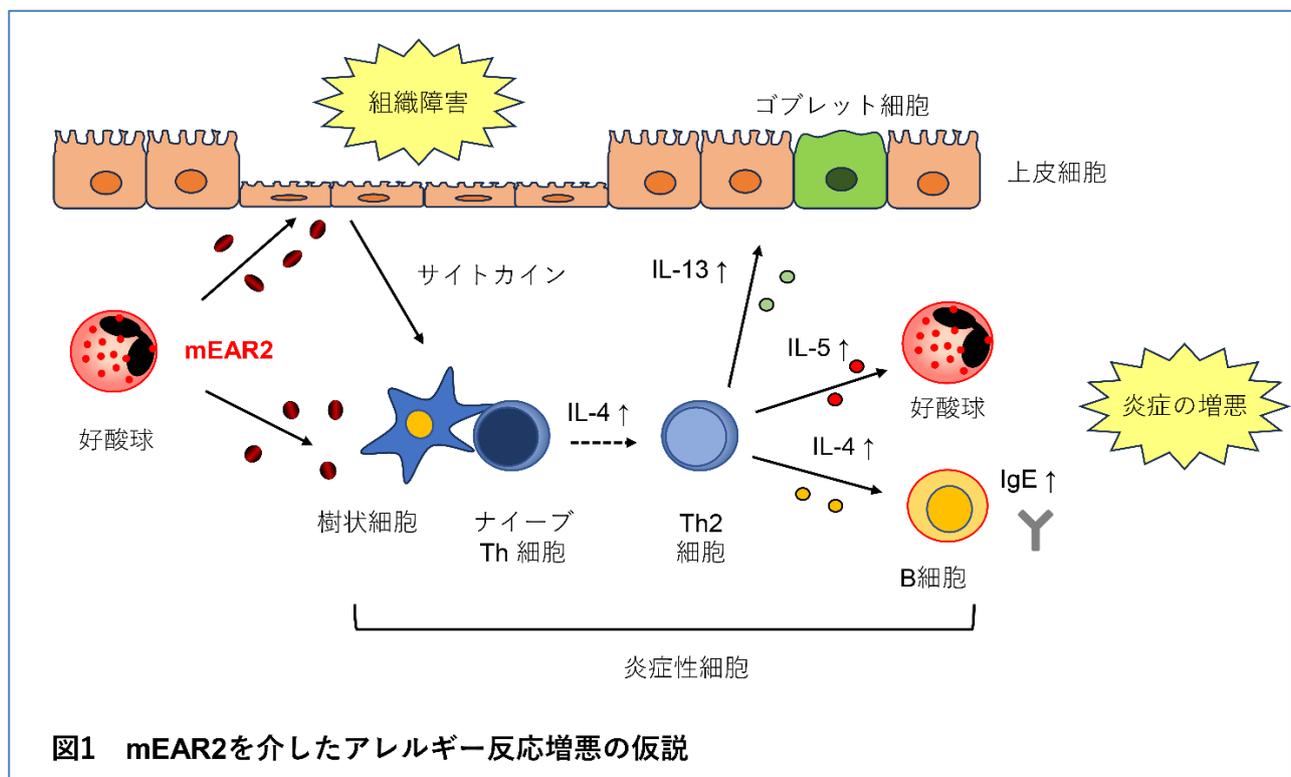
学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

を果たしていることを明らかにしました。下記仮説図に示すように、mEAR2が有する組織障害作用だけでなく、炎症性細胞と協働し、アレルギー反応の増悪に寄与することが推察されました。

今後、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、アナフィラキシーショックなどについても検討をおこなっていきたいと考えています。また、私たちは、mEAR2をターゲットにしたリポーターマウスもすでに樹立しています。このリポーターマウスを用いることで、mEAR2陽性細胞を生きた状態でリアルタイムに観察することが可能となり、アレルギー反応におけるmEAR2の時空的動態が明らかになると考えられます。この取り組みを発展することで、タイプ2炎症におけるmEAR2の詳細なメカニズム解明だけでなく、新しい治療戦略の開発にもつながる研究成果が得られると期待されます。



#### <用語説明>

- \*1：遺伝情報がコードされている部分
- \*2：人工的に癒合遺伝子を作成し、2種類の以上の異なるタンパク質を結合させたもの
- \*3：特定の遺伝子座にタンパク質をコードする相補的 DNA 配列を挿入する方法
- \*4：炎症反応に関与する化学物質の総称
- \*5：アレルギー反応を促進するサイトカイン（化学伝達物質のひとつ）の総称

#### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

リリース先：大阪科学・大学記者クラブ、文部科学記者会、  
科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ

**PRESS RELEASE**

2024年7月22日

No.000230



<本件研究に関するお問合せ先>

関西医科大学附属病院 臨床検査医学科、臨床検査医学センター

教授 神田 晃

大阪府枚方市新町 2-3-1

TEL：072-804-0101（代表）

E-mail：akanda@hirakata.kmu.ac.jp

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp