

## マスト細胞の研究に有用なミュータント動物

北村 幸彦  
大阪大学医学部病理学講座

### マスト細胞

マスト細胞は即時型アレルギー反応のエフェクター・フェイズに必須の細胞である。マスト細胞の表面には免疫グロブリンE(IgE)に対する高親和性受容体が発現しており、Bリンパ球によって産出されたIgEは、ただちにこの受容体に結合する。特定のIgE抗体に対応する抗原により、IgE分子を介して、複数の受容体が架橋されると、マスト細胞は好塩基顆粒中に貯えていた化学伝達物質を放出する。好塩基顆粒中にはヒスタミン、ヘパリン、マスト細胞特異的プロテアーゼ、TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ )などの物質が貯えられているが、これらの化学伝達物質が作用することにより即時型アレルギー反応が開始される。さらに脱顆粒反応をおこしたマスト細胞は、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、GM-CSFなどのサイトカインを産出するとともに、アラキドン酸からリウコトリエンあるいはプロスタグランدينを産出する。

好塩基球は、細胞表面に高親和性IgEレセプターを持っている点、好塩基顆粒を細胞質内に持っている点ではマスト細胞と同じであり、両者とも多分化能造血幹細胞の子孫であるが<sup>(1,2)</sup>、その分化過程はまったく異なる。マスト細胞が未分化で形態的には同定できない形で骨髄を出て、分化するべき場所に到着してからマスト細胞に分化するのに対して、好塩基球は骨髄で最終的に分化してから血液中に流出する<sup>(3)</sup>。好塩基球が末梢血液中を流れてから組織に入り、マスト細胞になるという考えもあった。しかしこの考えを否定する実験事実はいくらでもあるが、肯定する実験事実はまったくない。

### マスト細胞とc-kit

c-kitはネコの線維肉腫の癌遺伝子v-kitの細胞側のホモログとして獲られたものである。受容体チロシンキナーゼをコードしており、そのリガンドはstem cell factor (SCF)である。マウスではc-kitはW遺伝子座に、SCFはS1遺伝子座にコードされている。W遺伝子座に機能喪失性突然変異遺伝子を2個持つW/W<sup>m</sup>マウスと、S1遺伝子座に機能喪失性突然変異遺伝子を2個持つS1/S1<sup>d</sup>マウスは、ともにメラノサイト欠損、貧血、生殖細胞欠損、マスト細胞欠

損、そして最近発見されたカハールの介在細胞の欠損と5個の個性ある細胞の分化異常を呈する。これら5種類の細胞の分化にSCF-c-kit系が必須だからである。この5種類以外にも、SCF-c-kit系が作用する細胞、例えば後根神経節細胞はあるが<sup>(4)</sup>、これらの細胞ではSCF-c-kit系が働かなくても、それを補う他の増殖因子-受容体系が働くから分化異常はおこらない。SCFとc-kitには多くのミュータントが知られており、いくつかのミュータントで突然変異の分子生物学的性質と、生物学的な特徴がよく一致することが知られている<sup>(5,6)</sup>。

マスト細胞と好塩基球を区別するために最もよいマーカーはc-kitレセプター・チロシンキナーゼである。c-kitは造血幹細胞でも発現しているが、マスト細胞へと分化するとc-kitはずっと発現したままで、分化の終点に近づくとも一層c-kitの発現が高まる。一方好塩基球へと分化するとc-kitは発現しなくなるから、c-kitを発現している細胞はマスト細胞、発現していない細胞は好塩基球と簡単に区別できる。

### マスト細胞の腫瘍とc-kitの異常

c-kitはマスト細胞が正常に分化し、生存を続けるために必須であるが、突然変異のためにc-kitの活性化が構成的におこると、マスト細胞の腫瘍化がおこる。我々はいく種類かの腫瘍性マスト細胞株ではSCFを加えなくても、c-kitが活性化していることを見つけた<sup>(7,8)</sup>。腫瘍性のマスト細胞株は主としてアレルギー学の研究に用いられ、IgEレセプターからのシグナル伝達の研究などは、大量に培養が可能な腫瘍性マスト細胞株を用いて行なわれてきた。

我々は特別な増殖因子を必要とせず増殖を続ける腫瘍性マスト細胞におけるc-kit活性化の機構を調べるため、それらの腫瘍細胞からc-kitのcDNAを得て、塩基配列を決めたところ2つのタイプの活性化突然変異を発見した。1つのタイプは細胞膜のすぐ内側の傍細胞膜領域の突然変異、もう1つのタイプはチロシンキナーゼ領域の突然変異であった<sup>(7,9)</sup>。傍細胞膜領域の突然変異がおこると、c-kit蛋白は構成的に2量体を形成して活性化する。通常はSCFがc-kitに結合することによっておこる2量体化

が、SCFが結合しなくてもおこってしまうのである<sup>(9)</sup>。もう一方のチロシンキナーゼ領域の突然変異は特定のアスパラギン酸が、バリンかチロシンに変わる点突然変異で、この変異c-kitは2量体を形成しないままに活性化する<sup>(8)</sup>。

ヒトあるいは動物のマスト細胞性腫瘍で同様の突然変異が探された。現在までのところは、ヒトのマスト細胞性腫瘍の約10%でチロシンキナーゼ領域の特定のアスパラギン酸が、バリンに変わる点突然変異が見つかっている。c-kitの機能喪失性の突然変異を持った動物が、c-kitの生理作用とマスト細胞の分化を調べる上で非常に役立ったが、腫瘍性マスト細胞は即時型アレルギー反応の研究ばかりでなく、マスト細胞の腫瘍化の研究にも役立った。

### c-kit遺伝子の発現の調節

現在までにマスト細胞の減少をきたすことが知られているマウスのミュータントは、WとS1遺伝子座のミュータントを除くとmi遺伝子座のミュータントのみである<sup>(11,12)</sup>。mi遺伝子座がbasic helix loop helix leucine zipper型転写因子をコードしていることがわかって研究が進化した。mi遺伝子座がコードする転写因子(MITF)はマスト細胞で発現している種々の蛋白質の転写に関係している。マスト細胞におけるc-kitの転写もMITFによって影響され<sup>(13)</sup>、mi/miマウスから得た培養マスト細胞はc-kitの発現とSCFに対する反応性が低いが、正常のMITFをコードするcDNAをmi/mi培養マスト細胞に導入すると、c-kitの発現とSCFに対する反応は正常化する。その他のマスト細胞で発現する蛋白でMITFにより制御されていることを我々が明かにしたものには、マウス・マスト細胞プロテアーゼ(MMCP)6とMMCP-5、神経成長因子(NGF)受容体(p75)などがある<sup>(14)</sup>。

### 文献

- 1) Kitamura Y. et al.: Development of mast cells from grafted bone marrow cells in irradiated mice. *Nature* 268:442-443, 1977.
- 2) Kitamura Y. et al.: Spleen colony forming cell as common precursor for tissue mast cells and granulocytes. *Nature* 291:159-160, 1981.
- 3) Kitamura Y. et al.: Clonal nature of mast cell clusters in W/W<sup>m</sup> mice after bone marrow transplantation. *Nature* 281:154-155, 1979.
- 4) Hirata T. et al.: Stem cell factor induces outgrowth of c-kit-positive neurites and supports the survival of c-kit-positive neurons in dorsal root ganglia of mouse embryos. *Development* 119:49-56, 1993.
- 5) Tsujimura T. et al.: Mast cell number in the skin of heterozygotes reflects molecular nature of c-kit mutation. *Blood* 81:2530-2538, 1993.
- 6) Koshimizu U. et al.: W<sup>m</sup> mutation of c-kit receptor affects its post-translational processing and extracellular expression. *Oncogene* 9:157-162, 1994.
- 7) Furitsu T. et al.: Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand independent activation of c-kit product. *J. Clin. Invest.* 92:1736-1744, 1993.
- 8) Tsujimura T. et al.: Ligand-independent activation of c-kit receptor tyrosine kinase in a murine mastocytoma cell line P-815 generated by a point mutation. *Blood* 83:2619-2626, 1994.
- 9) Tsujimura T. et al.: Constitutive activation of c-kit in FMA3 murine mastocytoma cells caused by deletion of seven amino acids at the juxtamembrane domain. *Blood* 87:273-283, 1996.
- 10) Moriyama Y. et al.: Role of aspartic acid 814 in the function and expression of c-kit receptor tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.* 271:3347-3350, 1996.
- 11) Ebi Y. et al.: Mechanism of mast cell deficiency in mutant mice of mi/mi genotype: an analysis by co-culture of mast cells and fibroblasts. *Blood* 75:1247-1251, 1990.
- 12) Ebi Y. et al.: Low c-kit expression of cultured mast cells of mi/mi genotype may be involved in their defective responses to fibroblasts that express the ligand for c-kit. *Blood* 80:1454-1462, 1992.
- 13) Tsujimura T. et al.: Involvement of transcription factor encoded by the mi locus in the expression of c-kit receptor tyrosine kinase in cultured mast cell of mice. *Blood* 88:1225-1233, 1996.
- 14) Morii E. et al.: Regulation of mouse mast cell protease 6 gene expression by transcription factor encoded by the mi locus. *Blood* 88:2488-2494, 1996.