

機関番号：34519

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18073016

研究課題名（和文）寄生虫感染と宿主応答

研究課題名（英文）Infection with parasites and landlord response

研究代表者 中西 憲司（NAKANISHI KENJI）

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60172350

## 研究成果の概要（和文）：

蠕虫を感染させると、Th2/IgE 応答が誘導され、これらの応答で排除が起こる。しかし、何故、蠕虫感染で Th2/IgE 応答が誘導されるのかは不明である。本研究から、好塩基球は MHC class II, CD80/86 を発現しており、ナイーブ T 細胞を Th2 細胞に分化させることが明らかになった。更に、好塩基球を欠損したマウスに *Strongyloides venezuelensis* (Sv) を感染させたところ、正常なマウスに比して排虫が顕著に遅れることから、好塩基球が腸管寄生線虫排除に重要な細胞であることも明らかになった。最後に、蠕虫を感染させると、Th2/IgE 応答が誘導されるが、この Th2/IgE 誘導に蠕虫成分のキチンが Th2 アジュバントとして作用することも明らかとなった。また、キチンが IL-33 の産生を誘導し、次に、IL-33 が自然型 2 型ヘルパー細胞を刺激して IL-5 と IL-13 の産生を誘導することが明らかとなった。

## 研究成果の概要（英文）：

Although intestinal helminth is expelled mainly by the action of Th2 cells, the mechanism how helminth infection induces Th2/IgE response remains uncertain. To our surprise, basophils express MHC class II and CD80/86. They have the capacity to take-up and process protein antigen (Ag), particularly Ag-IgE complex, and to present peptide with MHC class II and produce IL-4. Thus, basophils are APC, which selectively induce Th2 cells. Furthermore Basophil-lacking mice showed diminished capacity to expel *Strongyloides venezuelensis* (Sv), although they developed Th2 response in response to infection with Sv. Since helminth infection induces Th2 response, we wished to determine the molecules responsible for inducing Th2 response. Here, we demonstrated that chitin is adjuvant. Furthermore, ip injection of chitin promptly induces IL-33, which in turn stimulates ST2-expressing innate type cells (e. g., natural helper cell) to produce IL-5 and IL-13.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	18,200,000	0	18,200,000
2007 年度	18,200,000	0	18,200,000
2008 年度	18,200,000	0	18,200,000
2009 年度	18,200,000	0	18,200,000
2010 年度	18,200,000	0	18,200,000
総計	91,000,000	0	91,000,000

研究分野：免疫学、アレルギー学、寄生虫学

科研費の分科・細目：医歯薬学・寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：Th2 応答、好塩基球、APC、蠕虫感染、アジュバント、キチン、IL-33

### 1. 研究開始当初の背景

*Leishmania major* 原虫を感染させると、感染抵抗性マウスでは Th1 応答が誘導され *L. major* の排除がおこる。また、腸管寄生線虫が感染した場合、Th2 型の免疫応答が誘導され、主に Th2 細胞の働きで排虫が起こる。興味あることは感染に伴い、好塩基球が肝臓と脾臓で著明に増加することである。この様な背景から、私は初めに好塩基球が Th2 応答の誘導に関与すると考え実験を進めた。次に、蠕虫を感染させると、Th2/IgE 応答が誘導されるが、この Th2/IgE 誘導に蠕虫成分のキチンが Th2 アジュバントとして作用すると考え研究を行った。

### 2. 研究の目的

そこで、本研究では好塩基球の Th2 誘導に対する作用を研究した。また、好塩基球欠損マウスを用いて、蠕虫排除における好塩基球の働きを検討した。最後に、蠕虫成分が Th2 応答を誘導するアジュバント成分を有することを明らかにするため、研究を進めた。

### 3. 研究の方法

好塩基球の Th2 細胞誘導能：骨髄由来の好塩基球上の MHC class II と CD80/86 の発現を FACS で解析する。次に、好塩基球が APC 機能を有することを証明するため、OVA 特異的 TcR を発現する DO11.10 マウスの T 細胞、OVA、そして抗原提示細胞 (DC あるいは好塩基球) を共培養して、外部から IL-4 を添加することなしでも、Th2 細胞が誘導されるか検討した。

好塩基球欠損マウスの作製：正常マウスに抗 Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  抗体 (MAR-1) を投与し、好塩基球を除去する。あるいは、好塩基球特異的 Diphtheria toxin (DT) receptor 発現マウス (Bas-TRECK) に DT を投与し、好塩基球を除去する。

*Strongyloides venezuelensis* (Sv) 排虫実験：野生型マウス、または好塩基球欠損マウスに Sv の 3 型幼虫を経皮感染させたマウスから糞便を連日採取し、この中に現れる虫卵数を計測する。虫卵が検出されなくなった時点を排虫完了日とする。Th2/IgE 誘導成分：Th2 アジュバントである Alum と対比しながら、キチンの IgE 産生増強作用を *in vivo* で検討した。さらに、キチンあるいは Alum を様々なマウスに腹腔内に投与して、細胞成分、並びにサイトカイン成分の変化を調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) 好塩基球と Th2 応答：

骨髄由来の好塩基球、あるいは脾臓由来の好塩基球は MHC class II と CD80/86 を発現している。そして、好塩基球は抗原である OVA

を取り込み、これをペプチド断片化した後、MHC class II に結合して T 細胞にこれを提示する。同時に IL-4 を産生しており、IL-4 の存在下で抗原刺激を受けた T 細胞は Th2 細胞に分化した。さらに、抗原単独でなく、抗原/抗原特異的 IgE 複合体を添加された好塩基球は、これを Fc $\epsilon$ R1 を介して効率よく取り込み、また、大量の IL-4 を産生する様になるので、この様な好塩基球は強力に OVA 特異的 T 細胞に抗原提示と IL-4 刺激を提供するため、より強力に Th2 細胞が誘導される様になる。即ち、好塩基球は強力な Th2 細胞を選択的に誘導する APC である。

次に、MAR-1 処置マウス、Bas-TRECK マウスのいずれの好塩基球を欠損したマウスに、Sv を感染させた場合、排虫時期が野生型マウスに比べて著しく遅延した。一方、このときの腸間膜リンパ節 T 細胞の IL-4 産生能、血清中 IgE 量、粘膜型肥満細胞の誘導には好塩基球の欠損で影響は認められなかった。このことから好塩基球は排虫に重要であるが、SV 感染で誘導される Th2 応答には関与しないことが明らかとなった。

#### (2) キチンと Th2 応答

蠕虫を感染させると、Th2/IgE 応答が誘導されるが、この Th2/IgE 誘導に蠕虫成分のキチンが Th2 アジュバントとして作用すると考え研究してきた。これまでの報告通り、卵白アルブミン (OVA) と水酸化アルミニウム (Alum) を混和したものを投与すると、OVA 特異的 Th2 細胞と OVA 特異的 IgE が誘導できることを確認した。次に、Alum のかわりにキチンと OVA を混和したものを投与したところ、やはり同程度の OVA 特異的 Th2 細胞と OVA 特異的 IgE 産生を誘導出来ることを明らかにした。この実験結果からキチンが Th2 アジュバントであることが明らかとなった。

次に、Th2 アジュバントの作用機序を解明するため、Alum あるいはキチンを正常マウスの腹腔内に投与したところ、投与後迅速に腹腔内の IL-33 の濃度が上昇し、引き続き IL-5 と IL-13 の濃度が上昇することが明らかとなった。ところが IL-33 欠損マウス、あるいは IL-33 受容体欠損マウスにキチンを腹腔内投与しても、IL-5 と IL-13 は上昇しなかった。この結果から、キチンが IL-33 の産生を介して IL-5 と IL-13 の産生を誘導することが強く示唆された。そこで、IL-33 を正常マウスの腹腔内に投与したところ、短時間で IL-5 と IL-13 の濃度が上昇することが明らかとなった。以上の結果から、キチンが IL-33 の産生を誘導し、次に、IL-33 が何らかの細胞を刺激して IL-5 と IL-13

の産生を誘導することが明らかとなった。最後に、キチンの刺激でIL-33を産生する細胞の正体を調べたところ、腹膜細胞がIL-33を産生することを明らかにした。また、IL-33の作用でIL-5とIL-13を産生する「未知の細胞」の正体を種々検討した結果、この未知の細胞が、「自然型2型ヘルパー細胞」であることが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 36 件)

- (1) Nakanishi K. Basophils as APC in Th2 response in allergic inflammation and parasite infection. *Curr Opin Immunol* 2010;22:814-20. 査読有
- (2) Nakanishi K. Basophils are potent antigen-presenting cells that selectively induce Th2 cells. *Eur J Immunol.* 2010 ;40:1836-42. 査読有
- (3) Satoh T, Takeuchi O, Vandenberg A, Yasuda K, Tanaka Y, Kumagai Y, Miyake T, Matsushita K, Okazaki T, Saitoh T, Honma K, Matsuyama T, Yui K, Tsujimura T, Standley DM, Nakanishi K., Nakai K, Akira S. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nat Immunol* 2010;11:936-44. 査読有
- (4) Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol* 2009;10:706-12. 査読有
- (5) Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-Yumikura, S., Morimoto, M., Hayashi, N., Hoshino, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2008) Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *Int. Immunol.*, 20, 791-800. 査読有
- (6) Kosaka, H., Yoshimoto, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2008) Interferon- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat. Med.*, 14, 437-441. 査読有
- (7) Yoshimoto, T., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Mizuguchi, J. and Nakanishi, K. (2007) IL-27 suppresses Th2 cell development and Th2 cytokines production from polarized Th2 cells: a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. *J. Immunol.*, 179, 4415-4423. 査読有
- (8) Hayashi, N., Yoshimoto, T., Izuhara, K., Matsui, K., Tanaka, T. and Nakanishi, K. (2007) T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN- $\gamma$  and IL-13 production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 104, 14765-14770. 査読有
- (9) Yoshimoto, T. and Nakanishi, K. (2006) Roles of IL-18 in basophils and mast cells. *Allergol. Int.*, 55, 105-113. 査読有
- (10) Terada, M., Tsutsui, H., Imai, Y., Yasuda, K., Mizutani, H., Yamanishi, K., Kubo, M., Matsui, K., Sano, H. and Nakanishi, K. (2006) Contribution of IL-18 to atopic dermatitis-like skin inflammation induced by *Staphylococcus aureus* product in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103, 8816-8821. 査読有
- (11) Ishikawa, Y., Yoshimoto, T. and Nakanishi, K. (2006) Contribution of IL-18-induced innate T cell activation to airway inflammation with mucus hypersecretion and airway hyperresponsiveness. *Int. Immunol.*, 18, 847-855. 査読有

[学会発表] (計 31 件)

- (1) Nakanishi K. Innate and acquired immunity in expulsion of intestinal nematode. 14th International Congress of Immunology 2010.8. 27 Kobe
- (2) Nakanishi K. Basophils are potent antigen-presenting cells which selectively induce Th2 cells. Adaptive and innate immune response to neglected tropical diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program

2010.1.9 San Diego

- (3) Nakanishi K. NKT IFN- $\gamma$  production in response to cancel cauterization induces intestinal adhesion formation by reciprocal regulation of plasminogen activator inhibitor type 1(PA I) and tissue-type plasminogen activator (tPA). The 5th International Symposium on CD1/NKT Cells 2009. 3. 26 Kamakura
- (4) 中西憲司 (2008) 術後の腸管癒着も免疫学的機序を基盤に形成される. (シンポジウム)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第5回(最終)公開シンポジウム, 12. 15, 東京. (要旨集, 13-16, 2008.)
- (5) Nakanishi, K. and Yoshimoto, T. (2008) Basophils induce and augment Th2 response. (シンポジウム) 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 12. 1-3, 京都. (日本免疫学会総会・学術集会記録, 38, 2, 2008.)
- (6) Nakanishi, K. (2007) Regulation of host defense against helminthes and protozoa by IL-18 and IL-27. (Symposium) The 7th Awaji International forum on infection and immunity. 9. 1-5, Hyogo.

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称 : Th2 細胞誘導用組成物および Th2 型疾患の治療組成物, ならびにこれらの利用.

発明者 : 善本知広, 中西憲司.

権利者 :

種類 : 特許

番号 : PCT/JP2009/005625

出願日 : 2009 年 10 月 26 日

名称 : 実験動物の腸管癒着を形成する方法、腸管癒着実験動物の製造方法、腸管癒着抑制剤のスクリーニング方法及び腸管癒着抑制剤

発明者 : 善本知広、中西憲司、藤元治朗

権利者 : 科学技術振興機構

種類 : 特許

番号 : 特願 2007-033904

出願年月日 : 2007 年 2 月 14 日

国内外の別 : 国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中西 憲司 (NAKANISHI KENJI)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 60172350