

科学研究費補助金研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：特定領域研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22021015

研究課題名（和文） 遺伝性アトピーを合併する免疫難病の病態解明

研究課題名（英文） Elucidation of Molecular Mechanisms of Hyper-IgE Syndrome

研究代表者

峯岸 克行 (MINEGISHI YOSHIYUKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：10343154

研究成果の概要（和文）：高 IgE 症候群は、アトピー性皮膚炎・血清 IgE の著しい高値に黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎を合併する原発性免疫不全症である。最近我々は、STAT3 のドミナントネガティブ変異が高 IgE 症候群の主要な原因であること、さらに皮膚と肺の黄色ブドウ球菌感染症には Th17 細胞の機能低下が関与していることを報告したが、それ以外の病態形成機構には不明な点が多い。そこで、今回われわれは STAT3 の分子異常がどのようなメカニズムでアトピー性皮膚炎と高 IgE 血症を引き起こすかを検討した。高 IgE 症候群の樹状細胞では IL-10 のシグナル伝達が障害されており、樹状細胞上の抑制分子、PD-L1, PD-L2, ILT-3, ILT-4 の発現が低下していることが明らかになった。そのため、誘導性の制御性 T 細胞 (induced regulatory T cell; iTreg cell) の分化誘導が低下しており、T 細胞の増殖抑制、サイトカインの産生抑制が障害されていた。この iTreg 細胞の誘導障害が、高 IgE 症候群に特徴的なアトピー性皮膚炎と高 IgE 血症の発症に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Hyper-IgE syndrome is a primary immunodeficiency characterized by recurrent staphylococcal infections and atopic dermatitis associated with elevated serum IgE levels. While defective Th17 cell differentiation partly accounts for susceptibility to staphylococcal skin abscesses and pneumonia, the pathogenesis of atopic manifestations in HIES still remains an enigma. Here we examined the differentiation and function of Th1, Th2, regulatory T (Treg), and dendritic cells in HIES patients carrying either *STAT3* mutation. Although the *in vitro* differentiation of Th1/Th2 cells and the number and function of Treg cells in the peripheral blood were normal in HIES patients with *STAT3* mutations, primary and monocyte-derived DCs showed defective response to IL-10 and hence failed to become tolerogenic. When treated with IL-10, patient DCs showed impaired upregulation of inhibitory molecules on their surface, including PD-L1 and ILT-4, compared to control DCs. Moreover, IL-10-treated DCs from patients displayed little ability to induce the differentiation of naïve CD4⁺ T cells to FOXP3⁺ induced Treg cells that could suppress the proliferation and cytokine production of other CD4⁺ T cells. These results suggest that the defective generation of IL-10-induced tolerogenic DCs and iTreg cells might contribute, at least in part, to the development of atopic manifestations in HIES.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	10,000,000	0	10,000,000
2011年度	10,000,000	0	10,000,000
年度			
年度			
年度			
総計	20,000,000	0	20,000,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：アレルギー学

キーワード：免疫不全症・高IgE症候群・アトピー性疾患・高IgE血症・黄色ブドウ球菌

1. 研究開始当初の背景

原発性免疫不全症の1つである高IgE症候群は、慢性のアトピー性皮膚炎、高IgE血症、黄色ブドウ球菌に対する肺と皮膚の易感染性を3主徴とする疾患である。免疫系以外の症状を合併する1型のもは、特徴的な顔貌と全身の骨、歯牙の異常を呈し、症状が免疫系に限局する2型のもは、重症の単純ヘルペスウイルスなどのウイルス感染症に反復罹患する。1型の高IgE症候群は、第1例が1966年に報告され、2007年にその原因がSTAT3分子のドミナントネガティブ変異であることを我々が明らかにしたが、その病態形成機構は明らかになっておらず、有効な予防法・治療法は存在しなかった。

2. 研究の目的

1型の高IgE症候群において、その原因遺伝子がSTAT3であることが明らかになったものの、STAT3の分子異常がどのようなメカニズムで高IgE症候群の多彩な症状を引き起こしているかはほとんど明らかになっていない。特に、STAT3の異常によりなぜ高IgE血症とアトピー性皮膚炎を呈するかは、残された重要な研究課題である。そこで今回我々は、STAT3の分子異常がどのようなメカニズムでアトピー性皮膚炎を発症するかを検討し、高IgE症候群の高IgE血症とアトピー性皮膚炎

に対する有効な予防法、治療法を開発することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

正常コントロールまたは患児の末梢血より比重遠心法により単核球(PBMC)を分離し、これを、抗CD3抗体と抗CD28抗体の存在下で培養し、上清中の各種サイトカインの濃度をELISA法で検討した。PBMCより、ナイーブCD4陽性T細胞を分離し、Th1/Th2細胞へと分化誘導する条件で培養し、各種のサイトカイン産生能を検討した。PBMCより単球を分離し、GM-CSFとIL-4を添加して培養することにより単球由来樹状細胞を樹立した。また、PBMCより樹状細胞をソーティングにより分離した。これらの細胞をサイトカイン等で刺激し、また、樹状細胞とナイーブCD4陽性T細胞を共培養し、増殖反応とサイトカイン産生能を検討した。Treg細胞の機能を評価するために、Treg細胞とCD4陽性CD25陰性T細胞の共培養を行い、その増殖抑制とサイトカイン産生抑制を検討した。

4. 研究成果

1. 高IgE症候群の末梢血中のナイーブCD4陽性T細胞は正常にTh1/Th2細胞に分化する。

PBMCより、ナイーブCD4陽性T細胞を分離し、Th1/Th2条件で培養し、IFN γ とIL-4の

産生細胞分画を細胞内染色により検討した。高 IgE 症候群のナイーブ CD4 陽性 T 細胞は、コントロールと同等に IFN γ と IL-4 を産生し、T 細胞には内因性の分化異常は存在しないと考えられた。

2. 高 IgE 症候群の樹状細胞は IL-10 のシグナル伝達が障害されている。

正常コントロールと高 IgE 症候群患児の PBMC より、単球を分離し、GM-CSF と IL-4 を添加培養することにより単球由来樹状細胞 (MoDC) を樹立した。これを IL-10 で刺激したところ、高 IgE 症候群の MoDC には、IL-10 のシグナル伝達障害があることが明らかになった。このため、細胞表面上の抑制分子、PD-L1, PD-L2, ILT-3, ILT-4 の発現上昇が障害されていた。そこで、この IL-10 で処理した MoDC とナイーブ CD4 陽性 T 細胞を共培養すると、高 IgE 症候群由来の樹状細胞は、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞に FOXP3 の発現を誘導できなかった。このため、この iTreg 細胞の増殖抑制とサイトカイン抑制が障害されていた。この現象は、単球由来樹状細胞だけでなく、患児末梢血中の primary DC でも確認された。

3. ヒトにおける iTreg 細胞の誘導メカニズムの検討

これまでの報告で、ヒトの iTreg 細胞の誘導には TGF β が重要な役割を果たしていることが知られていた。そこで、高 IgE 症候群の試験管内における IL-10 処理樹状細胞の機能障害が、生体内でどのような効果をもたらすかを検討するために、TGF β と IL-10 処理樹状細胞の iTreg 細胞の誘導能を比較した。すると、IL-10 処理樹状細胞は、TGF β と同等の iTreg 細胞誘導能を有しており、両者が存在すると相乗的に iTreg 細胞を誘導することが明らかになった。以上より、樹状細胞における IL-10 のシグナル伝達障害は、生体内での

iTreg 細胞の生成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

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 17 件)

1. Wada T, Ishiwata K, Koseki H, Ishikura T, Ugajin T, Ohnuma N, Obata K, Ishikawa R, Yoshikawa S, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Yokozeki H, Watanabe N, Karasuyama H. Selective ablation of basophils in mice reveals their nonredundant role in acquired immunity against ticks. *J Clin Invest*. 120:2867-2875. 2010 査読有り

2. Matsushima Y, Kikkawa Y, Takada T, Matsuoka K, Seki Y, Yoshida H, Minegishi Y, Karasuyama H, Yonekawa H. An atopic dermatitis-like skin disease with hyper-IgE-emia develops in mice carrying a spontaneous recessive point mutation in the Traf3ip2 (Act1/CIKS) gene. *J Immunol*. 185: 2340-2349. 2010 査読有り

3. Ishikawa R, Tsujimura Y, Obata K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. IgG-mediated systemic anaphylaxis to protein antigen can be induced even under conditions of limited amounts of antibody and antigen. *Biochem Biophys Res Commun*. 402:742-746, 2010 査読有り

4. 飯島茂子、渡邊真也、本山景一、後藤昌英、泉 維昌、峯岸克行 特異な皮膚症状を呈し、遺伝子検索にて生後 7 カ月で診断した 1 型高 IgE 症候群の 1 例 日本皮膚科学会雑誌 120, 2203-2211, 2010 査読無し

5. 高田英俊、峯岸克行 高 IgE 症候群の最

近の進歩 日本臨床免疫学会誌 33, 15-19,
2010 査読無し

6. 峯岸克行 STAT3 の遺伝子異常により発症する免疫不全症、細胞工学 特集 Human Immunology の新たな構築 29(3), 230-233, 2010 査読無し

7. 峯岸克行 高 IgE 症候群ではなぜ皮膚と肺にのみ黄色ブドウ球菌感染が生じるのか? 臨床免疫—アレルギー科, 53, 517-520, 2010 査読無し

8. 峯岸克行 サイトカインのシグナル伝達異常と遺伝性疾患 臨床検査, 54, 682-686, 2010 査読無し

9. 峯岸克行 サイトカインのシグナル伝達異常により発症する免疫不全症 医学の歩み, 234, 518-522, 2010 査読無し

10. Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, Ariga T, Tsuge I, Nonoyama S, Karasuyama H, Minegishi Y. Defective IL-10 signaling in hyper-IgE syndrome results in impaired generation of tolerogenic dendritic cells and induced regulatory T cells. J Exp Med 208: 235-249, 2011 査読有り

11. Nishikado H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H., NK cell-depleting anti-asialo GM1 Ab exhibits a lethal 'off-target' effect on basophils in vivo J Immunol 186: 5766-5771, 2011 査読有り

12. Watarai A, Niiyama S, Morita M, Bando Y, Minegishi Y, Katsuoka K. Hyper IgE syndrome diagnosed in early infancy by gene analysis of STAT3 mutation. Eur J Dermatol, 21: 254-255, 2011 査読有り

13. Yamagishi H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Obata K, Ugajin T, Sato S, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Basophil-derived mouse mast cell protease 11 induces microvascular leakage and tissue edema in a mast cell-independent manner Biochem Biophys Res Comm 415: 709-713, 2011 査読有り

14. Minegishi Y, Saito M. Molecular mechanisms of the immunological abnormalities in hyper IgE syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 1246: 34-40, 2011 査読有り

15. 峯岸克行 原発性免疫不全症の新展開 炎症と免疫 19 (5)、3-4、2011 査読無し

16. 峯岸克行 高 IgE 症候群における易感染性のメカニズム 呼吸器内科 20, 83-86, 2011 査読無し

17. 齋藤雅子 峯岸克行 高 IgE 症候群の病因・病態解析 アレルギー・免疫 18, 72-76, 2011 査読無し

[学会発表] (計 14 件)

1. Minegishi Y, Saito M, Karasuyama H. Molecular origins and mechanism of hyper-IgE syndrome." Primary Immunodeficiency in Asia, Kazusa Academia Hall, February 4-5, 2010.

2. Minegishi Y, Saito M, Karasuyama H. Hyper-IgE Syndrome and STAT3" European Society for Immunodeficiency, Oct. 6-10, 2010, Istanbul, Turkey

3. Minegishi Y. Molecular Defects in Hyper IgE Syndrome First international conference on primary immunodeficiency diseases Mar 5-6, 2011 New Delhi, India

4. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 高 IgE 症候群における骨と歯牙の異常の発症機序の検討 厚生労働省原発性免疫不全症調査

研究班第1回班会議 東京 2010年1月29日

5. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 アトピー性皮膚炎を合併する免疫不全症、高IgE症候群の病因と病態の解明、皮膚科免疫セミナー特別講演 東京 2010年3月6日

6. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 ヒトの遺伝子性シグナル遺伝子変異とその病態 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会 シンポジウム 北九州 2010年6月26日

7. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 第25回九州血液免疫研究会 遺伝子性アトピーを呈する免疫不全症 高IgE症候群の病因と病態の解明 特別講演 2010年10月23日 福岡

8. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 和歌山県立医大 大学院特別講義 アトピー性皮膚炎を合併する免疫不全症高IgE症候群の病因と病態の解明 2010年10月29日 和歌山

9. 峯岸克行、齋藤雅子、烏山 一 第60回日本アレルギー学会 ワークショップ マウスモデルを利用した高IgE症候群の病態解明 2010年11月25-27日 東京

10. 峯岸克行 原発性免疫不全症の病因と病態の解明 理化学研究所ゲノム医科学センター講演シリーズ 理化学研究所横浜研究所 2011年4月15日

11. Minegishi Y. Molecular Defects in Hyper IgE Syndrome" The First international conference on primary immunodeficiency diseases. 2011 New Delhi, India

12. Minegishi Y. Molecular pathology of Hyper IgE Syndrome" Pediatric Academic Society 2011, Denver Convention Center, Denver, USA 2011 4.30-5.3

13. Minegishi Y. Japan's Contribution to PID Research" World Immunology Conference, Jun 1-5, Rockefeller University, New York, USA

14. Minegishi Y. Molecular pathogenesis of Hyper IgE Syndrome The Third EMBO Conference on Host Genetic Control of Infectious Diseases Sep 28-30, 2011, Pasteur Institute, Paris, France

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)
該当なし

○取得状況 (計0件)
該当なし

[その他]
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

峯岸克行 (MINEGISHI YOSHIYUKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究・准教授

研究者番号: 10343154