

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月10日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09221

研究課題名(和文) エラスターゼ誘導気道炎症および肺気腫進展におけるIL-23の役割の解明

研究課題名(英文) Importance of IL-23 to the Development of Elastase-Induced Pulmonary Inflammation and Emphysema

研究代表者

宮原 信明 (Nobuaki, Miyahara)

岡山大学・保健学研究科・教授

研究者番号：70335610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：IL-23は主にマクロファージや樹状細胞から分泌されるサイトカインであり、Th17細胞の分化を誘導することから慢性閉塞性肺疾患の病態への関与が示唆されるが、その役割は明らかでない。エラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルを用いてIL-23の役割を検討した。IL-23欠損マウスと野生型マウスで比較検討したところ、IL-23欠損マウスは野生型マウスに比して、肺気腫の進展および気道炎症が軽度であった。野生型マウスに抗IL-23抗体投与したところ、コントロール抗体投与群に比し、有意に気腫化の軽減を認めた。IL-23を制御することにより、肺気腫、COPDの治療として有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

COPDにおいて、IL-17Aが肺気腫の進展に重要な役割を担っており、IL-23がIL-17Aを介して肺気腫の進展に関与していることが明らかとなった。抗IL-23抗体はヒトでは乾癬の治療薬としてすでに使用されており、また自己免疫性脳脊髄炎など様々な炎症性疾患マウスモデルにおける有用性が報告されている。これまで肺気腫への効果は全く不明であったが、本研究により抗IL-23抗体療法がCOPDの新規治療薬として、COPD患者の症状改善と年々増加している死亡者数の減少に極めて有用な治療となる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：The proliferation of T helper 17 (Th17) cells was induced by IL-23. To determine the contribution of IL-23 to the development of pulmonary emphysema a mouse model of PPE-induced emphysema was used in which responses of IL-23p19-deficient (IL-23^{-/-}) and wild type (WT) mice were compared. Compared to WT mice, IL-23^{-/-} mice developed markedly reduced emphysematous changes on histological analyses following PPE-instillation. These changes were associated with lower levels of IL-17A and fewer Th17 cells in the lung. The neutrophilia seen in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid of WT mice was attenuated in IL-23^{-/-} mice. Treatment with anti-IL-23p40 monoclonal antibody significantly attenuated PPE-induced emphysematous changes in the lungs of WT mice.

These data identify the important contributions of IL-23 to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. Targeting IL-23 in emphysema is a potential therapeutic strategy for delaying disease progression.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：IL-23 IL-17A COPD 肺気腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺気腫を中心とする慢性閉塞性肺疾患 (COPD) はタバコ煙などの有害物質の吸入により生じる、持続する末梢気道炎症および肺泡の破壊により呼吸不全を来す病態であり、2020 年には虚血性心疾患、脳血管障害につぐ世界第 3 位の死因になると予想されている。有効な治療法に乏しく、病態の解明および新たな治療法の開発が望まれる。

病態として、肺に集積した好中球やマクロファージから放出されたエラスターゼが肺組織を破壊して気腫化をもたらす、いわゆるエラスターゼ・アンチエラスターゼ不均衡説、エフェクター CD8+T 細胞から放出される granzyme や perforin による組織破壊、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞のアポトーシスの関与などが注目されている。申請者らはロイコトリエン (Ikeda G, Miyahara N, et al. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50:18) や終末糖化産物受容体 (RAGE) の肺気腫進展への関与 (Waseda K, Miyahara N, et al. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2014 in press) を報告したが、どのようなメカニズムで肺気腫が発症進展するかはまだ不明な点が多い。

IL-23 は主に活性化樹状細胞やマクロファージによって産生されるサイトカインで、p40 と p19 の 2 つのサブユニットから構成されている。IL-23 は IL-17 を産生する CD4+T 細胞 (Th17 細胞) の増殖や維持に重要な役割を担っていることが報告されているが、肺気腫、COPD の病態における役割については明らかでない。Th17 細胞は自己免疫性疾患の病態に深く関わっており (Diabetes 2009, 58:1302)、さらに COPD 患者の肺で増加していることが近年報告された (Chest 2011, 139:1089)。申請者は IL-17 および Th17 細胞数がエラスターゼで惹起した肺気腫マウスの肺内で増加し、好中球やマクロファージなどの炎症細胞の気道への浸潤を促進すること、さらに IL-17 欠損マウスは野生型マウスと比較し、肺気腫を生じにくいことを世界で初めて報告した (Kurimoto E, Miyahara N, et al. *Respir Res* 14:5. 2013)。従って Th17 の増殖、維持に重要な IL-23 の制御、すなわち IL-23/IL-17 経路の制御が新たな肺気腫および COPD の治療戦略として期待される。

近年、COPD と喘息の合併した病態: Asthma COPD overlap syndrome (ACOS) が増加し、単独の病態より予後が不良であり、臨床上、大きな問題となっている。申請者は以前エフェクター CD8+T 細胞が気管支喘息の発症、増悪に深く関わっていることを世界で初めて報告した (Miyahara N et al. *Nature Med.* 2004;10:865, *J Immunol.* 2004;172:2549) が、CD8+T 細胞は COPD の気道でも多数認められ、COPD および ACOS の病態への関与が示唆される。p40 を制御することにより ACOS への治療効果も期待される。

2. 研究の目的

マウス肺気腫モデルを用いて、IL-23 の肺気腫および気道炎症への関与を明らかにする。抗 p40 抗体投与による IL-23 を介した IL-17 および Th17 の抑制効果、気道炎症および気腫性変化の抑制効果を検討する。

次に IL-23 ノックアウト (IL-23KO) マウスを用いて、IL-23 単独の肺気腫進展への役割を検討する。抗 p40 抗体の肺気腫モデルへの効果を比較検討し、将来的な臨床応用を視野に肺気腫治療への応用を試みる。

3. 研究の方法

まず、IL-23KO マウスを用いて肺気腫モデルを作成し、気道炎症および気腫化の程度を野生型マウスと比較検討し、肺気腫病態進展における IL-23 の役割を解析する。エラスターゼ (PPE) 惹起気道炎症および肺気腫進展について IL-23 欠損マウスと野生型マウスで比較検討する。

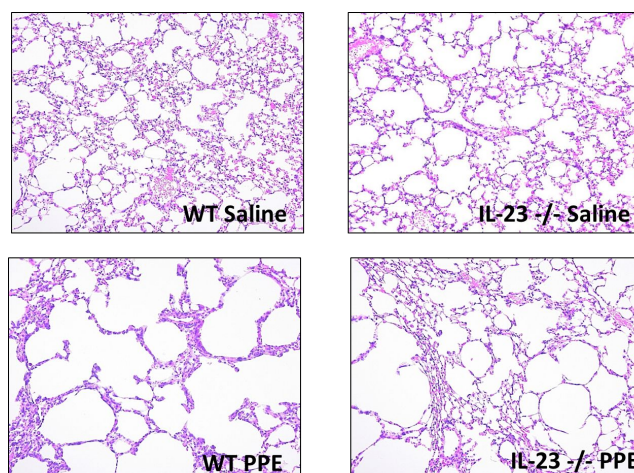
次に、抗 p40 抗体投与により IL-23 を阻害し、気道炎症および肺気腫進展が抑制されるかどうかを検討する。

4. 研究成果

マウスエラスターゼ誘導肺気腫モデルを用いて、肺気腫の進展に IL-23/Th17 が重要な役割を担っていることを本研究で明らかにした。

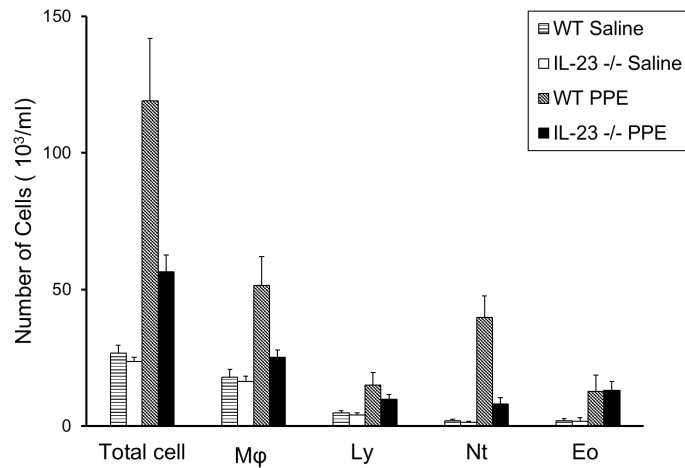
まずは IL-23 欠損マウスと野生型マウスでエラスターゼ誘導肺気腫を作成し、肺気腫の進展の程度を比較検討した。IL-23 欠損マウスは、エラスターゼ投与し、気腫性変化を惹起させた後の静肺コンプライアンスが野生型マウスにくらべて低値を示した。そして、肺組織では図 1 に示すように、IL-23 欠損マウス (IL-23^{-/-}) は PPE 投与後の気腫の程度が野生型マウスに比して、軽度であり、その程度を定量評価した平均肺胞間距離も有意に低値を示した。従って、IL-23 が欠損するとエラスターゼ誘導肺気腫進展が野生型マウスに比して軽度であることから、

(図 1)



IL-23 がエラスターゼ誘導肺気腫進展に促進的に働いていると考えられた。
(図 2)

さらに、IL-23 欠損マウスは、エラスターゼ投与後の、肺内の Th17 関連サイトカインである IL-17A の値も野生型マウスに比べて低値を示した。KC, MIP-2 などの好中球関連ケモカイン値も IL-23 欠損マウスでは野生型マウスに比して、有意に低値を示した。またエラスターゼ投与後早期の気管支肺胞洗浄液中の好中球数は、IL-23 欠損マウスにおいて、野生型マウスよりも低値を示し(図 2) 好中性気道炎症およびその後に進展する肺気腫の進展に IL-23、そして IL-23 が誘導する IL-17A が必須であることが示唆された。

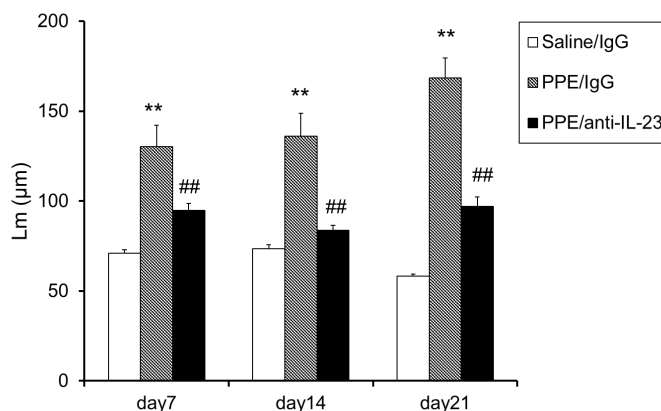


次に野生型マウスにエラスターゼ誘導肺気腫を作成し、エラスターゼ投与前に抗 IL-23 抗体を投与し、IL-23 の抑制を行ったところ、抗 IL-23 抗体投与群では平均肺胞間距離の低下を認め、エラスターゼ誘導肺気腫進展を抑制することができた。

さらに、エラスターゼ投与 1 週間後の既に肺気腫が進展しつつある時期に抗 IL-23 抗体を投与し、肺気腫の進展を抑制するかどうかを検討したところ、抗 IL-23 抗体による肺気腫進展抑制

効果が得られた。したがって、エラスターゼ投与後の好中球性気道炎症およびその後に進展する肺気腫の進展に IL-23、そして IL-23 が誘導する IL-17A が必須であることが示唆され、IL-23 を抑制することが新たな肺気腫の治療となりうることを示唆された。

図 3 平均肺胞間距離



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Fujii U, Miyahara N, Taniguchi A, Waseda K, Morichika D, Kurimoto E, Koga H, Kataoka M, Gelfand EW, Cua DJ, Yoshimura A, Tanimoto M, Kanehiro A. IL-23 is essential for the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema. Am J Respir Cell Mol Biol 2016;55:697-707 査読有

[学会発表] (計 4 件)

Miyahara N. Recent topics of molecular biology in the field of airway inflammation 21th Congress of Asian Pacific Society of Respiriology Thailand 20161113

Fujii U, Miyahara N, Taniguchi A, Waseda K, Morichika D, Kurimoto E, Koga H, Kataoka M, Yoshimura A, Tanimoto M, Kanehiro A. IL-23 is Essential to the Development of Elastase-induced Pulmonary Inflammation and Emphysema. European Respiratory Society International Conference London 20160912

Fujii U, Miyahara N, Taniguchi A, Waseda K, Morichika D, Kurimoto E, Koga H, Kataoka M, Gelfand EW, Cua DJ, Yoshimura A, Tanimoto M, Kanehiro A. IL-23 is Essential to the Development of Elastase-induced Pulmonary Inflammation and Emphysema 第 56 回 日本呼吸器学会学術講演会 京都 20160411

Fujii U, Miyahara N, Akihiko Taniguchi A, Kawano K, Morichika D, Murakami E, Waseda K, Nakayama H, Kataoka M, Yoshimura A, Tanimoto M, Kanehiro A. Importance of IL-23 to the Development of Elastase-Induced Pulmonary Inflammation and Emphysema 米国胸部学会国際会議 Denver 20150515

6 . 研究組織

(1)研究分担者

金廣 有彦 (ARIHIKO KANEHIRO)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

准教授

研究者番号： 20243503

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 吉村昭彦

ローマ字氏名： AKIHIKO YOSHIMURA

慶應義塾大学医学部微生物学免疫学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。