

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20210

研究課題名(和文)好酸球性上気道炎症における自然免疫リンパ球の発現と微生物コンポーネントへの応答性

研究課題名(英文) Expression of innate lymphoid cell and its response to microbial components in eosinophilic upper airway inflammation

研究代表者

檜垣 貴哉 (Higaki, Takaya)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：30587407

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年問題になっている、好酸球性副鼻腔炎においては自然リンパ球が増加していることが知られている。しかし、その役割については、不明な点が多かった。本研究では、副鼻腔炎の手術で得られた鼻茸の細胞を用いて自然リンパ球の発現と役割について解析した。自然リンパ球は多量のサイトカイン産生を行う事が知られている。鼻茸中の自然リンパ球を分離し、黄色ブドウ球菌の毒素で刺激を行ったところ、好酸球性炎症を増悪させるサイトカインの産生が増強される事が明らかになった。また、同時に好酸球性炎症に対して抑制的に働くサイトカインの産生は抑制される事が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Eosinophilic chronic sinusitis shows increased innate lymphoid cells in the tissue. Although, little is known about the role of innate lymphoid cells. In this research, we examined the expression and the role of innate lymphoid cells in eosinophilic sinusitis. We use nasal polyp cell which were collected at the sinus surely. Innate lymphoid cells are known for the strong cytokine producing ability. Innate lymphoid cells were isolated from nasal polyp cells and stimulated with staphylococcal enterotoxin B. Innate lymphoid cells showed enhanced production of type 2 cytokines which exacerbate eosinophilic inflammation. On the other hand, production of type 1 cytokines seem to be inhibited.

研究分野：鼻科学、アレルギー・免疫学

キーワード：自然リンパ球 好酸球性副鼻腔炎 IL-5 IL-13 鼻茸

1. 研究開始当初の背景

これまでの、感染性の慢性副鼻腔炎の軽症化、現象が見られる一方で、好酸球浸潤を特徴とし、難治性の好酸球性副鼻腔炎が近年問題となっている。

好酸球性副鼻腔炎は、治療にしばしば抵抗性で、重症の副鼻腔炎を示すことがある。手術的加療やステロイドの全身投与が行われることがあるが、現在でも満足のいく治療効果は得られていないのが現状で、しばしば再発も見られている。その病態解明が進められているが、未だ十分には解明されていない。

好酸球性副鼻腔炎においてはこれまでの解析で、好酸球の炎症を誘導する各種サイトカインが重要な役割を果たしていることが明らかになっている。我々も、好酸球性副鼻腔炎の病態でのサイトカインの制御機構に注目し、これまで研究を進めてきた。

2型サイトカインを産生し、好酸球性炎症に関与するTh2細胞やその制御に携わる、制御性T細胞の機能について研究を進めてきた。しかし、難治性好酸球性炎症の病態の詳細については未明の点も多く残されていた。

これまで理解が進んできた抗原特異的な獲得免疫系に加えて、近年自然免疫の重要性が注目を集めてきた。中でも、自然免疫系の細胞である自然リンパ球は、好酸球性炎症におけるサイトカイン産生において重要な役割を果たす可能性が注目されている。

好酸球性副鼻腔炎においては自然リンパ球の増加が知られており、病態への関与が考えられていたが、詳細については不明であった。自然リンパ球は、高いサイトカイン産生能を示すことが知られており、特に2型自然リンパ球は、好酸球性副鼻腔炎の増悪因子となる2型サイトカインを多量に産生する。

そのため、好酸球性副鼻腔炎においても、重要な役割を果たす可能性がある。好酸球性副鼻腔炎をはじめとした好酸球性気道炎症は、近年難治性の気道炎症として重要性が増しており、その病態解明が重要な課題となっている。自然リンパ球の、好酸球性副鼻腔炎における役割について解析することで好酸球性副鼻腔炎の病態全体への理解を深めることが必要と考えられた。

これまで、自然リンパ球は細胞数の少なさも有り、十分な解析が進んでいなかった。今回は手術で得られる鼻茸より、細胞を単離することで、自然リンパ球の機能解析を行う。

鼻茸は、副鼻腔炎の治療として行われる手術で摘出され、自然リンパ球を含む多くの免疫

細胞が存在している。また、鼻茸形成は好酸球性副鼻腔炎の特徴的な所見であり、各種炎症性物質の産生母地となっている。そのため、好酸球性副鼻腔炎の局所の病態解明を行うのに最適な材料と考えられる。

2. 研究の目的

好酸球性副鼻腔炎のような好酸球性上気道炎症における、自然リンパ球の発現と役割について解析を進める。

好酸球性副鼻腔炎の病態についてはまだ未明の点も多く、自然リンパ球の関与について解析することで、病態の詳細を明らかにすることを目的とする。

自然免疫系は微生物コンポーネントによる刺激により活性化されることが考えられる。本研究においても黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B による刺激を利用して自然免疫系細胞である自然リンパ球を刺激し、その機能について解析を試みる

3. 研究の方法

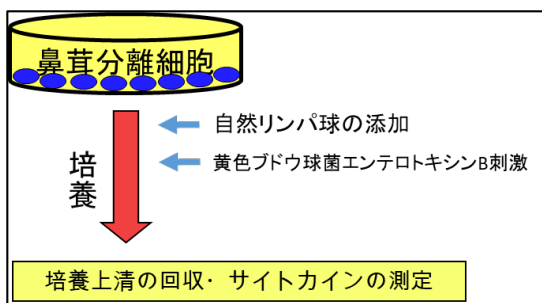
副鼻腔炎の手術で摘出される鼻茸を、洗浄し、各種酵素を用いて処理し、鼻茸分離細胞を作成した。鼻茸分離細胞から、Lineage 陰性、CD127 陽性細胞を単離し、自然リンパ球として単離した。

鼻茸分離細胞を黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激することでサイトカインを産生させた。これまでの我々の研究で鼻茸分離細胞を黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激すると、好酸球性炎症に関与する各種サイトカインの産生が見られることが確認されている。黄色ブドウ球菌は鼻・副鼻腔に広く存在する常在菌である。

サイトカインは、培養の上清を回収し、ELISA 法にて測定を行った。測定したサイトカインは IL-5、IL-13、IL-17A、IL-22、IL-10 および IFN- γ である。

鼻茸分離細胞を刺激する際に、自然リンパ球を添加し、その有無により、サイトカインの産生に有意な変化が生じるのかについて検討した。

【実験方法 概要】



4. 研究成果

鼻茸分離細胞は黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激に対して、IL-5、IL-13、IFN- γ 、IL-10、IL-17 および IL-22 の産生を示した。

IL-5、IL-13 は好酸球性炎症において特に重要なサイトカインである。産生サイトカイン中においても、これらの産生は多く、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激による、鼻茸分離細胞からのサイトカイン産生は好酸球性副鼻腔炎の病態における局所のモデルと考えることが出来る。

鼻茸分離細胞を黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激する際に、単離していた自然リンパ球を添加することで、2 型サイトカインの IL-5 および IL-13 の産生がさらに増強した。一方で、自然リンパ球の添加により、IFN- γ 、IL-17A および IL-22 の産生については抑制された。

鼻茸中の自然リンパ球は、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B 刺激によって誘導される 2 型サイトカイン産生を増強し、1 型サイトカイン産生を抑制する可能性が示唆された。

2 型サイトカインの産生増強は好酸球性炎症の増悪につながる事が考えられる。一方で 1 型サイトカインは好酸球性炎症に対しては抑制的に働き、その抑制はやはり好酸球性炎症の増悪へつながる。

実際の、好酸球性副鼻腔炎においても微生物のコンポーネントにおける刺激は重要な役割を果たしていると考えられている。本研究で示されたように微生物コンポーネントによる刺激は好酸球性副鼻腔炎の成立に重要なサイトカイン産生を誘導する。自然リンパ球はこれらの微生物コンポーネントの刺激により、病態を一段と強い物とする可能性が有る。また、自然リンパ球は、病態を増悪させるサイトカインの産生増強のみではなく、病態に対して抑制的に働くサイトカインに対してはその産生を阻害する可能性も示唆された。

自然リンパ球は免疫応答の初期段階においての重要なサイトカイン産生源と考えられている。

好酸球性副鼻腔炎においても炎症性サイトカイン産生増強に自然リンパ球が関与していることが本研究で示唆された。

従来から理解の進んでいる Th2 細胞などによる炎症を増悪させている可能性が示唆される。

自然リンパ球の制御は好酸球性副鼻腔炎においても重要な治療ターゲットとなる可能性がある。

今後は、自然リンパ球の病態への関与についてさらなる解明を進め、さらには自然リンパ球をターゲットとした治療への応用の可能性についても研究を進める必要があると考えられる。

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 3 件)

1. Noyama Y, Okano M, Higaki T (16 人中 5 番目) ら

IL-22/IL-22R1 signaling regulates the pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyps via alteration of MUC1 expression.

査読有り、Allergology International
2017 Jan;66(1):42-51.

doi: 10.1016/j.alit.2016.04.017.

2. Okano M, Higaki T (13 人中 4 番目)

Regulatory effect of TLR3 signaling on staphylococcal enterotoxin-induced IL-5, IL-13, IL-17A and IFN- γ production in chronic rhinosinusitis with nasal polyps.

査読有り Allergology International
2016 Jan;65(1):96-102.

doi: 10.1016/j.alit.2015.08.005.

3. Okano M, Higaki T (9 人中 5 番目)

Staphylococcal protein A-formulated immune complexes suppress enterotoxin-induced cellular responses in nasal polyps.

査読有り Journal of Allergy and Clinical Immunology
2015 Aug;136(2):343-50.e8.

doi: 10.1016/j.jaci.2014.10.058.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 第 54 回日本鼻科学会総会・学術講演会
2015 年 10 月 1 日～3 日 広島市
「鼻茸分離細胞を用いた Pam3CSK4 がサイトカイン産生に与える影響の検討」
檜垣貴哉、岡野光博、藤原瑠美、小山貴久、金井健吾、野山和廉、春名威範、假谷伸、西崎和則

2. 第 116 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
2015 年 5 月 21 日～23 日 東京
「鼻茸分離細胞を用いた好酸球性副鼻腔炎実験モデルにおける TLR2 の役割に関する検討」
檜垣貴哉、岡野光博、藤原瑠美、小山貴久、野山和廉、春名威範、野田洋平、假谷伸、西崎和則

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

檜垣 貴哉 (HIGAKI, Takaya)
岡山大学病院 耳鼻咽喉科 助教
研究者番号：30587407