

令和元年6月25日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09595

研究課題名(和文) IL-18, IL-38制御による炎症性肺疾患の治療

研究課題名(英文) Regulation of IL-18 and IL-38 for the treatment of inflammatory pulmonary diseases

研究代表者

星野 友昭 (Hoshino, Tomoaki)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：00261066

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：IL-38は気管支喘息死の肺病変部に強く発現していた。喘息のモデルマウスとIL-38欠損マウス(KO)を用いて好酸球の気道炎症におけるIL-38の機能解析を行った。結果は、喘息のモデルマウスではIL-38KOマウスで好酸球、IL-5が低下した。よって、IL-38はIL-5産生増強を介し好酸球による気道炎症と気道過敏性亢進に関与することが示唆された。IL-18はMacrophage Activation Syndrome (MAS) に関与していることを報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規IL-1ファミリーサイトカインIL-38は抗炎症性サイトカインの可能性があると示唆された(Biochemistry and Biophysics Reports 2015)。一方、IL-38は炎症性サイトカインの可能性を本研究で証明した。すなわち、IL-38は抗炎症性と炎症性サイトカインの二つの可能性を本研究で証明した。申請者は抗ヒトIL-38モノクローナル抗体を樹立した。抗IL-38モノクローナル抗体H127CはBiologend, eBioscienceから世界中で販売され、IL-38の研究に役立っている。

研究成果の概要(英文)：The role of IL-38, a new member of the IL-1 family, in airway eosinophilic inflammatory conditions such as asthma is unclear. To investigate the role of IL-38 in airway eosinophilic inflammation, an IL-38-gene deficient (KO) murine asthma model was analyzed. The IL-38 and IL-5 mRNA in WT mice was significantly higher after OVA challenge than after saline challenge ($p < 0.05$). The number of airway eosinophils in IL-38-KO mice was significantly lower than in WT mice after OVA challenge ($p < 0.01$). BALF analysis confirmed the lower number of airway eosinophils in IL-38-KO mice and showed that this was significantly associated with lower IL-5 protein levels ($r = 0.92$, $p < 0.0001$). However, the additional rm IL-38 protein did not neutralize airway eosinophilia in IL-38-KO mice. IL-38 may enhance airway eosinophilic inflammation in asthma through IL-5 induction. We also reported that IL-18 strongly involves in activation of Macrophage Activation Syndrome (MAS).

研究分野：呼吸器内科

キーワード：IL-38 喘息 好酸球 IL-5

1. 研究当初の背景

申請者は、これまで、申請者は IL-1 ファミリーサイトカイン IL-18 が Th1 細胞分化誘導だけでなく IL-13 産生 Th2 細胞分化誘導することを証明した。IL-18 を遺伝子改変にてヒトサーファクタント蛋白 C (SP-C) プロモーターを使って肺特異的過剰発現させる IL-18 トランスジェニック (SPC-IL-18Tg) マウスを作製した。以下のことを報告した。

- (1) 肺特異的 IL-18 トランスジェニックマウス は IL-13 依存性に炎症細胞を伴った肺気腫を誘導する。 (*American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007; 176: 49-62.)
- (2) 一過性の肺特異的 IL-18 過剰発現が間質性肺炎を起こす。 (*American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007; 176: 49-62.)
- (3) IL-18 は CD4+T 細胞や IL-13 と関連し気道過敏性と肺炎症を引き起こす (*PLoS One* 8, e54623)
- (4) 肺特異的 IL-18TG マウス、喫煙者、COPD 患者における Chi3l1 の強発現 (*PLoS One* 6, e24177)
- (5) C57BL/6N バックグラウンド SPC-IL-18Tg マウスは、週齢と共に体重減少、肺気腫化、右心不全および耐糖能異常を引き起こし COPD 病態と類似していた。 (*Biochem Biophys Res Commun* 445, 597-601)
- (6) 最重症 COPD 患者の肺病変部では M2 マクロファージが増加する。 (*PLoS One* 9, e87400)

当時最も新しいサイトカイン IL-38 (IL-1F10) は IL-1 ファミリーに属し、IL-17 を抑制する (*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Feb 21; 109(8):3001-5)。我々は、C57BL/6 バックグラウンド IL-38 遺伝子欠損 (KO) マウスを作製した。IL-38KO マウスでは野生型 (WT) マウスより、IL-1β、IL-6 産生増加し、リウマチ (RA) マウスモデルの関節の炎症が悪化することを報告した。 (*Biochemistry and Biophysics Reports* 2015; 4:386-391.)

これらの結果は、IL-1 ファミリーは遺伝子学的に構造が似ているにもかかわらず、IL-18 は炎症促進性 (pro-inflammatory) サイトカインで、IL-38 は抗炎症性 (anti-inflammatory) サイトカインである可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究では、(1) 炎症性肺疾患における IL-18、IL-38、M2 マクロファージの機能を検討し、(2) IL-18、IL-38 制御による炎症性肺疾患の治療の研究を行う。

3. 研究の方法

(1) 炎症性肺疾患 (気管支喘息死、COPD、間質性肺炎) 患者検体を用いた解析: 樹立した抗ヒト IL-38 モノクローナル抗体 clone H127C 及び M2 マクロファージマーカー抗 CD163, CD204, CD206 抗体を用いて、ホルマリン固定した肺病変部を免疫染色法 (IHC) で染色す

る。血清及び組織は ELISA 法やマルチプレックスアッセイ法等で解析する。

(2)恒常的肺特異的 IL-38 マウスの作製。

(3)気管支喘息マウスモデル、間質性肺炎マウスモデル及び COPD マウスモデルを用いた IL-18, IL-38 の制御による炎症性肺疾患の治療の研究

(4)IL-38 遺伝子欠損マウスを用いた気管支喘息マウスモデル解析: 遺伝子改変マウスは IL-38KO マウスを用いる。この遺伝子改変マウスを用いて、気管支喘息マウスモデルを解析する。具体的には、鶏卵白アルブミン(OVA)10 マイクログラムを水酸化アルミニウムと混和して腹腔内に day 0, 5 に 2 回投与し感作する。Day18 に生理食塩水に溶かした 5%OVA を経気道から暴露する。Day 19 に気道過敏性や気道炎症を検討する。

4 . 研究成果

IL-38 は気管支喘息死の肺病変部に強く発現していた。喘息のモデルマウスと IL-38 欠損マウス (KO)を用いて好酸球の気道炎症における IL-38 の機能解析を行った。結果は、喘息のモデルマウスでは IL-38KO マウスで好酸球、IL-5 が低下した。よって、IL-38 は IL-5 産生増強を介し好酸球による気道炎症と気道過敏性亢進に関与することが示唆された (*The Kurume medical journal* 2019;65:37-46.)

M2 マクロファージは喘息の発症に関与していることを CD163KO マウスを用いて証明した (*Annals of allergy, asthma & immunology* 2019)。

IL-18 は Macrophage Activation Syndrome (MAS) に関与していることを報告した (*Blood* 2018;131:1442-1455.)

IL-38 は肺線維症や抗がん剤による肺障害に関与することを報告した。 (*Respiratory investigation* 2017;55:293-299.)

肺がんにおける IL-38 の発現と PD-L1 の発現は強く相関することを報告した。 (*PloS one* 2017;12:e0181598.)

本研究で樹立した抗ヒト IL-38 モノクローナル抗体 H127C は Biologend, eBioscience, MBL から世界中で販売されている。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

Tokunaga Y, Imaoka H, Kaku Y, Kawayama T, Hoshino T. The significance of cd163 expressing macrophages in asthma. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the*

American College of Allergy, Asthma, & Immunology、査読あり、2019 May 29. pii: S1081-1206(19)30395-3.

doi: 10.1016/j.anai.2019.05.019. [Epub ahead of print]

Matsuoka M, Kawayama T, Tominaga M, Kaieda S, Tokunaga Y, Kaku Y, Imaoka H, Kinoshita T, Okamoto M, Akiba J, Hoshino T. Attenuated airway eosinophilic inflammations in il-38 knockout mouse model. *The Kurume medical journal* 査読あり、2019;65:37-46.

doi: 10.2739/kurumemedj.MS652009

Weiss ES, Girard-Guyonvarc'h C, Holzinger D, de Jesus AA, Tariq Z, Picarsic J, Schiffrin EJ, Foell D, Grom AA, Ammann S, Ehl S, Hoshino T, Goldbach-Mansky R, Gabay C, Canna SW. Interleukin-18 diagnostically distinguishes and pathogenically promotes human and murine macrophage activation syndrome. *Blood* 査読あり、2018;131:1442-1455.

doi: 10.1182/blood-2017-12-820852

Seki T, Obata-Ninomiya K, Shimogawara-Furushima R, Arai T, Akao N, Hoshino T, Ohta N. Il-33/st2 contributes to severe symptoms in plasmodium chabaudi-infected balb/c mice. *Parasitology international* 査読あり、2018;67:64-69.

doi: 10.1016/j.parint.2017.03.008

Tominaga M, Okamoto M, Kawayama T, Matsuoka M, Kaieda S, Sakazaki Y, Kinoshita T, Mori D, Inoue A, Hoshino T. Overexpression of il-38 protein in anticancer drug-induced lung injury and acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory investigation* 査読あり、2017;55:293-299.

doi: 10.1016/j.resinv.2017.06.001

Takada K, Okamoto T, Tominaga M, Teraishi K, Akamine T, Takamori S, Katsura M, Toyokawa G, Shoji F, Okamoto M, Oda Y, Hoshino T, Maehara Y. Clinical implications of the novel cytokine il-38 expressed in lung adenocarcinoma: Possible association with pd-l1 expression. *PloS one* 査読あり、2017;12:e0181598.

doi: 10.1371/journal.pone.0181598

Devos FC, Pollaris L, Cremer J, Seys S, Hoshino T, Ceuppens J, Talavera K, Nemery B, Hoet PHM, Vanoirbeek JAJ. Il-13 is a central mediator of chemical-induced airway hyperreactivity in mice. *PloS one* 査読あり、2017;12:e0180690.

doi: 10.1371/journal.pone.0180690

6 . 研究組織

研究分担者無し