

令和 4 年 4 月 7 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17912

研究課題名（和文）マクロファージによる新規ヒスタミン産生機構の解明

研究課題名（英文）Novel histamine production mechanism from macrophages

研究代表者

岩崎 成仁（Iwasaki, Naruhito）

大阪市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：80808006

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒスタミンはアレルギー症状を誘発する重要な物質である。一般的にアレルギー疾患に關与するヒスタミンは、肥満細胞、好塩基球が抗原に反応して放出される。本研究では、これまで知られていなかったヒスタミンの新たな産生機構に着目して研究を行った。その結果、免疫細胞の一つであるマクロファージがTh2細胞と相互作用することでヒスタミンを放出することを明らかにした。また、Th2細胞自身にもヒスタミン産生能があることも同定した。さらに、動物モデルを用いて、これらのヒスタミンが生体内においてアレルギー病態に關与していることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒスタミンはアレルギー症状の誘発に關与する重要な物質であり、治療ターゲットとなっている。日常臨床においても、抗ヒスタミン薬は広く普及した抗アレルギー薬である。本研究では、これまで報告のない新規ヒスタミン産生機構を明らかにした。その結果、これまでとは異なった観点からヒスタミンをターゲットとした治療法の開発が可能となる。このことが本研究の最も重要な意義であると考えられる。

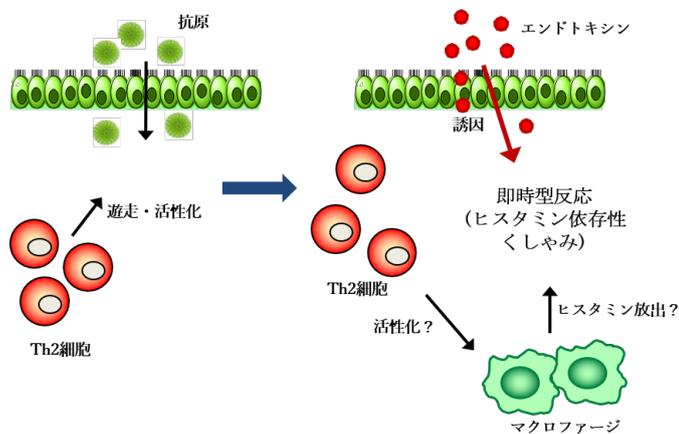
研究成果の概要（英文）：Histamine is a crucial allergic inflammatory mediator produced by mast cells and basophils. In this study, we identified a novel histamine production mechanism by the interaction of macrophages and Th2 cells, and also revealed that Th2 cells produced histamine. In addition, animal model demonstrated that Th2 cells and macrophages induced allergic inflammation through histamine signaling.

研究分野：アレルギー

キーワード：Th2細胞 マクロファージ ヒスタミン

1. 研究開始当初の背景

IgE 抗体により誘導される I 型過敏症反応(即時型反応)は、アレルギー疾患の症状発現において重要な役割を担っている。例えば、アレルギー性鼻炎では抗原特異的 Th2 細胞が形成され、その作用により抗原特異的 IgE 抗体が産生される。肥満細胞・好塩基球上の IgE 受容体を介して、IgE 抗体が抗原と架橋されることによりヒスタミンが放出され、くしゃみ、水様性鼻漏などの即時型反応が誘導される。しかし、臨床所見はアレルギー性鼻炎様症状を示しているが、血液検査を行うと、血清中の抗原特異的 IgE 抗体が検出されない症例も存在する。本邦の鼻アレルギー診断ガイドラインによると、このような患者は血管運動性鼻炎、あるいは鼻汁中に著明な好酸球の浸潤を認める場合は好酸球増多性鼻炎と診断される。



研究代表者は新たに IgE 非依存性に鼻炎症状(くしゃみ)を誘導するマウスモデルを作製し、新規アレルギー誘導機序を明らかにした (Iwasaki N. et al., *J Allergy Clin Immunol.* 2017)。研究代表者らのマウスモデルを用いた研究から、

図1. 研究代表者が明らかにしたエンドトキシンを引き金とした IgE 非依存性即時型反応

抗原特異的 Th2 細胞が抗原を介して活性化した状態では、エンドトキシンの曝露により、即時型反応であるくしゃみが IgE 非依存性に誘導されることが明らかとなった(図 1)。この現象は過去に報告のない新規 I 型過敏症様反応と考えられた。

2. 研究の目的

研究代表者が明らかにした新規 I 型過敏症反応には、抗原特異的 Th2 細胞、マクロファージ、ヒスタミンが関与している。それぞれがどのような役割を果たしているかは不明であった。そこで、本研究で我々は、

- (1) Th2 細胞とマクロファージによるヒスタミン産生機構が存在するか
 - (2) マクロファージ由来ヒスタミンが生体内で重要な役割をもつか
- 上記 2 つの点を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) Th2 細胞とマクロファージによる新規ヒスタミン産生機構を *in vitro* 実験で解析
 - ①マクロファージは主要組織適合遺伝子複合体クラス II を発現しており、抗原提示細胞の役割も担っている。研究代表者は骨髓由来マクロファージを用いた実験を行い、マクロファージと抗原特異的 Th2 細胞に抗原を加えて共培養することにより、ヒスタミンが産生されるか検討した。
 - ②過去の研究では、T 細胞がヒスタミンを産生するという報告がある。マクロファージがヒスタミン産生細胞であることを確定するために、ヒスタミン合成酵素(histidine decarboxylase:Hdc)欠損マウスを用いた実験を行った。Hdc 欠損マウスと卵白アルブミン

(ovalbumin:OVA) 特異的 T 細胞受容体を発現した DO11.10 マウスを交配させ、Hdc 欠損 DO11.10 マウスを作製して実験に用いた。

③T 細胞にヒスタミン産生能があるか、抗 CD3/CD28 刺激を加えて検討した。

(2) 生体内での新規ヒスタミン産生機構の役割を検討するために、抗原特異的記憶 Th2 細胞移入マウスモデルを作製し解析した。

4. 研究成果

(1) Th2 細胞とマクロファージによる新規ヒスタミン産生機構を *in vitro* 実験で解析

①まず Th2 細胞とマクロファージの共培養モデルを作製した。マウス骨髄細胞から骨髄細胞由来マクロファージ (bone marrow derived macrophage:BMDM) を誘導した。DO11.10 マウス由来 CD4⁺T 細胞を *in vitro* で Th2 細胞に誘導後、BMDM と Th2 細胞に OVApep (OVA 特異的 Th2 細胞により認識される OVA の 323-339 残基領域に相当するペプチド) を加え 24 時間培養し、上清中のヒスタミンを測定した。その結果、OVApep (+) 群では、OVApep (-) 群に比べて、著大なヒスタミンの産生を認めた(図 2)。この現象は過去に報告のない、新規ヒスタミン産生機構と考えられた。

②この共培養モデルでは、マクロファージがヒスタミン産生細胞と推測されたが、T 細胞もヒスタミンを産生することが知られている。共培養モデルにおけるヒスタミン産生細胞がマクロファージであるか検討するために、ヒスタミンを産生することができない Hdc 欠損マウスを用いた実験を行った。まず、次に、野生型マウスと Hdc 欠損マウスより BMDM を誘導し、DO11.10 マウスと Hdc 欠損 DO11.10 マウスより OVA 特異的 Th2 細胞を誘導し、OVApep を加えて 24 時間培養した。その結果、Hdc 欠損 BMDM では著明にヒスタミンの産生が抑制された。Th2 細胞のヒスタミンが欠損しても、ヒスタミン産生に影響を認めなかった(図 2)。これらの結果から、マクロファージと Th2 細胞の共培養モデルでは、ヒスタミンの産生細胞は主にマクロファージであることが明らかになった。

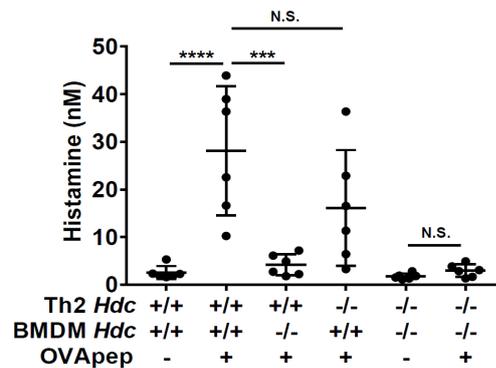


図 2. マクロファージと Th2 細胞に抗原を加え共培養することで、ヒスタミンが放出される (Iwasaki et al. PLoS One 2021)

③Th2 細胞自身にヒスタミン産生能があるかを検討するために、ナイーブ CD4⁺T 細胞と Th2 細胞に抗 CD3/CD28 刺激を加え、24 時間培養し、上清中のヒスタミンを測定した。その結果、Th2 細胞に抗 CD3/CD28 刺激を加えると、ナイーブ CD4⁺T 細胞、抗 CD3/CD28 刺激を加えなかった Th2 細胞と比べ、著大なヒスタミンの産生を認めた。この反応は Th1 細胞では認めず、Th2 細胞特異的な現象であった。

(2) 抗原特異的記憶 Th2 細胞移入マウスモデルを用いた *in vivo* 実験での解析

Th2 細胞を移入し 5 週間後に OVA 抗原を鼻腔内へ投与すると即時型反応であるくしゃみが誘導

された。さらに、クロドロン酸内包リポソームを腹腔内へ投与し、マクロファージを除去するとくしゃみは抑制された。また、Hdc 欠損マウスに Th2 細胞を移入し抗原を投与してもくしゃみは誘導されなかった。さらに、ヒスタミン H1 受容体拮抗薬であるジフェンヒドラミンを投与することによりくしゃみは抑制された。これらのことから、Th2 細胞とマクロファージにより誘導されるくしゃみは、H1 受容体を介する反応であることが明らかとなった。

次に、ヒスタミンを産生しない Hdc 欠損 Th2 細胞を移入し、同様の実験を行った。その結果、Hdc 欠損 Th2 細胞を移入したマウスでは、鼻粘膜への Th2 細胞の浸潤が抑制された。この結果は、Th2 細胞が産生するヒスタミンが、アレルギー病態の形成に関与することが示唆された。

まとめ

本研究から、マクロファージと Th2 細胞による新規ヒスタミン産生機構の存在が明らかになった。また、Th2 細胞も T 細胞受容体への刺激を受けて、ヒスタミンを産生することも同定した。動物実験モデルからは、Th2 細胞とマクロファージが生体内でヒスタミンを介してアレルギー炎症を誘導することが示唆された(図

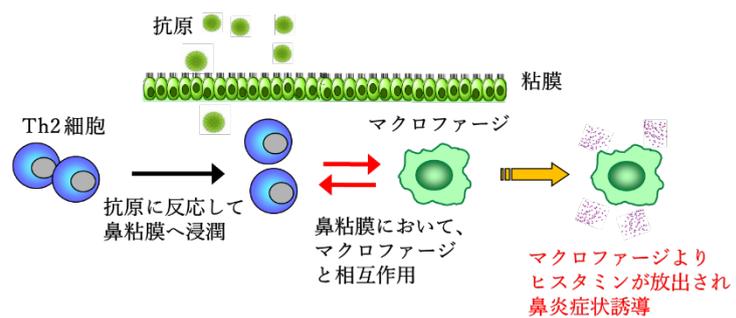


図3. 研究代表者が明らかにした Th2 細胞とマクロファージによる新規アレルギー症状誘導機構

3)。In vitro 実験の結果も考慮すると、生体内においても Th2 細胞とマクロファージが相互作用し、ヒスタミンが放出されていると推測される。本研究終了時点では、不明な点も多く、今後は詳細な機序についてさらに研究を続けていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Iwasaki Naruhito, Terawaki Seigo, Shimizu Kouhei, Oikawa Daisuke, Sakamoto Hirokazu, Sunami Kishiko, Tokunaga Fuminori	4. 巻 70
2. 論文標題 Th2 cell-derived histamine is involved in nasal Th2 infiltration in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 539 ~ 541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00011-021-01458-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwasaki N, Terawaki S, Shimizu K, Oikawa D, Sakamoto H, Sunami K, Tokunaga F.	4. 巻 -
2. 論文標題 Th2 cells and macrophages cooperatively induce allergic inflammation through histamine signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plos One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0248158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Iwasaki N, Terawaki S, Sakamoto H, Sunami K, Tokunaga F.
2. 発表標題 Macrophages produce histamine through the interaction with antigen specific Th2 cells
3. 学会等名 European Academy of Allergy and Clinical Immunology 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Iwasaki N, Terawaki S, Sakamoto H, Sunami K, Tokunaga F.
2. 発表標題 Macrophages produce histamine through the interaction with antigen specific Th2 cells
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩崎成仁
2. 発表標題 Th2細胞による新規 型過敏症様反応の形成
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩崎成仁, 寺脇正剛, 阪本浩一, 角南貴司子, 徳永文稔
2. 発表標題 抗原特異的Th2細胞による新規ヒスタミン産生機構の解明
3. 学会等名 第38回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関