

機関番号：82612

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ～2009

課題番号：20790706

研究課題名 (和文) IL-33 誘導性喘息モデルの確立と解析

研究課題名 (英文) Analysis of IL-33-induced asthma model

研究代表者

大保木 啓介 (OBOKI KEISUKE)

国立成育医療研究センター (研究所)・免疫アレルギー研究部・共同研究員

研究者番号：80415108

研究成果の概要 (和文)：

喘息は軽症から重症例まで幅広く、その病態がどのようにして起きるのかは未だに未解明である。2005 年にアレルギー性の炎症を引き起こすことが証明された比較的新しいサイトカインである IL-33 の喘息病態における役割を調べるために、IL-33 を使った新しい喘息モデルをマウスを使って作成した。このモデルでは、重症喘息に見られる病態を一部再現できたことに加え、IL-33 の働く仕組みについての新しい知見を得ることができた。

研究成果の概要 (英文)：

Asthma is a syndrome with a heterogeneous phenotype. However, the pathogenic mechanisms of this heterogeneity are still largely unknown. To investigate the asthma-related roles of IL-33, which was reported in 2005 as an allergenic cytokine, I have established and studied a new mouse model of asthma. Using this model, I have been observed a part of the severe asthma manifestation and acquired some novel mechanisms in IL-33-related pathogenic inflammation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：アレルギー学、免疫学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：IL-33、マスト細胞、喘息モデル、CD4+ T 細胞

## 1. 研究開始当初の背景

IL-33 はマウスへの全身投与によって血中 IL-5、IL-13、IgE を増加させ、炎症を惹起する新規サイトカインとして 2005 年 Immunity 誌で報告された。IL-33 はヒトを含む哺乳動物間で保存されており、IL-1 ファミリーに属するサイトカインである。IL-33 受容体 (IL-33R) は  $\alpha\beta$  二量体として機能し、IL-33R  $\alpha$  鎖はオーファンレセプターであった IL-1 受容体ファミリーの ST2 であり

(Immunity 2005 23(5):479-90)、IL-33R  $\beta$  鎖は IL-1 受容体  $\beta$  鎖と同一であることが明らかとなっている (J Immunol 2007 179(4):2551-5)。IL-33 を発現する細胞は、樹状細胞、マクロファージのほか、血管内皮、平滑筋、ケラチノサイト、皮膚繊維芽細胞であり、一方、IL-33R を発現する細胞はマスト細胞と Th2 細胞である。これらのことから、IL-33 は末梢組織で産生される Th2 反応誘導因子であり、末梢に存在するマスト細胞の活

性化、あるいはアレルギー反応の中核である Th2 細胞の活性化や局所への動員を担うサイトカインであると考えられている。SNP による連鎖解析からは、アトピー性皮膚炎患者群の IL-33R 遺伝子のプロモーターに機能性 SNP が見出されている(Hum Mol Genet 2005 14(19):2919-27)。この事実は IL-33 が実際のアレルギー疾患でも重要な役割を演じることを明快に示している。

申請者は、IL-33R を発現するマスト細胞(ヒトおよびマウス)への IL-33 の効果を世界に先駆けて報告した(Lab Invest 2007 87(10):971-8, Epub; 2007.8.13, J Leukoc Biol in press, Epub; 2007.9.19)。IL-33 は IgE 経路とは大きく異なり、IL33R-MyD88-TRAF6 経路を介してリン酸化シグナルを核へと伝達し、炎症性サイトカインなど標的遺伝子の転写活性化を促す。これまでの in vitro の研究から細胞内分子メカニズムの概略は明らかとなったが、実際のアレルギー疾患において、IL-33 がどのような効果を持つのかは充分には理解されていない。

申請者は in vivo で IL-33 による炎症誘導機構の理解を進めるため、IL-33 投与によるマウス喘息モデルの確立を試みる。

## 2. 研究の目的

本研究の目標は以下の4点である。

- (1) IL-33 吸入によるマウス喘息モデルを確立する。
- (2) IL-33 吸入による肺所属リンパ節 CD4+T 細胞の応答様式を解明する。
- (3) 肺における IL-33 発現細胞を同定する。
- (4) IL-33 誘導性喘息モデルにおいて、免疫系細胞の果す役割を解明する。

## 3. 研究の方法

本研究計画は2ヵ年計画で行われる。初年度は、IL-33 吸入による喘息モデルを確立し、IL-33 産生細胞の同定を行った後、IL-33 によって腫大した所属リンパ節の CD4+T 細胞プロファイル解析を重点的に行う。同年度、研究材料である各種ノックアウトマウスを研究協力者などから導入を進め、翌年度に備える。IL-33 欠損マウスの開発は初年度末を目標に据える。次年度は、各種ノックアウトマウス、突然変異マウスを用いて IL-33 誘導性喘息モデルを作製し、細胞レベル、分子レベルでの、IL-33 による気道炎症誘導メカニズムの解析を行う。

## 4. 研究成果

- (1) IL-33 吸入によるマウス喘息モデルを確立する。

IL-33 は他のサイトカインよりも強力に肺に炎症を誘導できることが確認できた。

- (2) IL-33 吸入による肺所属リンパ節 CD4+T 細胞の応答様式を解明する。

IL-33 吸入後の肺所属リンパ節は顕著に腫大し、各 CD4+T 細胞サブセット(Th1、Th2、Th17、Treg)が増加した。

- (3) 肺における IL-33 発現細胞を同定する。

抗 IL-33 抗体を使った免疫組織化学法により、OVA で喘息を誘導したマウスの肺での IL33 産生細胞の同定を行った。

- (4) IL-33 誘導性喘息モデルにおいて、免疫系細胞の果す役割を解明する。

各種の細胞欠損マウスを使って IL-33 誘導性の炎症に介在する細胞の探索を進めた。免疫系細胞欠損マウスは T・B 細胞欠損 (Rag-2 欠損及び scid/scid)、マスト細胞欠損 (W/Wv 及び Wsh/Wsh)、NKT 細胞欠損 (CD1d 欠損)、好塩基球欠損マウスでの炎症誘導を確認した。

## 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6件)

1. Ishii A, Oboki K, Nambu A, Morita H, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Sudo H, Okumura K, Saito H and Nakae S. Development of IL-17-mediated delayed-type hypersensitivity is not affected by down-regulation of IL-25 expression. Allergol Int. in press.

2. Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Ishii A, Sunnarborg SW, Okumura K, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice. Allergol Int. 59(2):207-11, 2010.

3. Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Morii E, Aozasa K, Flavell RA, Okumura K, Saito H, Nakae S. Caspase-1, caspase-8, and calpain are dispensable for IL-33 release by macrophages. J Immunol. 183(12):7890-7, 2009.

4. Nishida K, Hasegawa A, Nakae S, Oboki K, Saito H, Yamasaki S, Hirano T. Zinc transporter Znt5/Slc30a5 is required for the mast cell-mediated delayed-type allergic reaction but not the immediate-type reaction. J Exp Med. 206(6):1351-64, 2009.

5. Nakae, S., Oboki, K., and Saito, H. Mast cells and T-cell expansion. Blood 111:2497-2498, 2008

6. Hijikata A, Kitamura H, Kimura Y, Yokoyama R, Aiba Y, Bao Y, Fujita S, Hase K, Hori S, Ishii Y, Kanagawa O, Kawamoto H, Kawano K, Koseki H, Kubo M, Kurita-Miki A, Kurosaki T, Masuda K, Nakata M, Oboki K, Ohno H, Okamoto M, Okayama Y, O-Wang J, Saito H, Saito T, Sakuma M, Sato K, Sato K, Seino K, Setoguchi R, Tamura Y, Tanaka M, Taniguchi M,

Taniuchi I, Teng A, Watanabe T, Watarai H, Yamasaki S, Ohara O. Construction of an open-access database that integrates cross-reference information from the transcriptome and proteome of immune cells. *Bioinformatics*. 23(21):2934-41, 2007.

7. 大保木啓介、斎藤博久、中江進  
重症／難治性喘息の多様性とこれからの研究戦略

*IgE practice in asthma* 4(2); 2-5, 2010

8. 大保木啓介、大野建州、梶原直樹、斎藤博久、中江進

マスト細胞による免疫調節機序(特集 アレルギーの促進要因と抑制要因)

*臨床免疫・アレルギー科* 53(1); 29-35, 2010

9. 大野建州、大保木啓介、梶原直樹、斎藤博久、中江進

IL-33によるマスト細胞の活性化

*臨床免疫・アレルギー*、52(1):93-99, 2009

10. 梶原直樹、大保木啓介、大野建州、斎藤博久、中江進

マスト細胞と Th17 細胞とによるアレルギー

*臨床免疫・アレルギー科*、52(1)119-129, 2009

11. 大保木啓介、大野建州、梶原直樹、斎藤博久、中江進

IL-33 とアレルギー

*実験医学別冊* 27(20); 126-131, 2009

12. 梶原直樹、大保木啓介、大野建州、斎藤博久、中江進

Th17 細胞とアレルギー

*実験医学別冊* 27(20); 36-42, 2009

13. 大野建州、大保木啓介、梶原直樹、斎藤博久、中江進

IL-17 および Th17 細胞による免疫応答  
*Minophagen Medical Review*、53(5/6)261-290, 2008

14. 大保木啓介 大野建州 斎藤博久 中江進

アレルギー疾患と IL-17/Th17 細胞—アレルギー・疾患の発症機構における IL-17 および Th17 細胞の役割

*医学のあゆみ*, 226(4); 281-289, 2008

15. 大保木啓介、大野建州、斎藤博久、中江進

Th17 誘導性気道炎症とマスト細胞(特集 免疫学の最近の動向)

*生体の科学*. 59(4); 281-289, 2008

[学会発表] (計 1 件)

大保木啓介他、Regulatory T cell expansion by IL-33-primed mast cells is crucial for immunosuppression. 第 38 回日本免疫学会 2008 年 12 月 1 日、国立京都国際会館 ワークショップ 3、1-B-W3-7-0/P

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：制御性 T 細胞の製造方法

発明者：中江進、大保木啓介、大野建州、山田倫子、梶原直樹、斎藤博久

権利者：財) ヒューマンサイエンス振興財団

種類：特許

番号：特許公開：2010-4853

出願年月日：2008 年 6 月 30 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大保木 啓介 (OBOKI KEISUKE)

国立成育医療研究センター (研究所)・

免疫アレルギー研究部・共同研究員

研究者番号：80415108

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：