

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18278

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎の免疫抑制における制御性T細胞と抑制性サイトカインの役割の解明

研究課題名（英文）Role of regulatory T cells and suppressive cytokines in immunosuppression of eosinophilic rhinosinusitis.

研究代表者

山本 小百合（Yamamoto, Sayuri）

滋賀医科大学・医学部・客員助教

研究者番号：10828114

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）：好酸球性副鼻腔炎における制御性T細胞の免疫抑制機能を明らかにすることを目的に検討を行った。eCRS患者のNPでは、Th2細胞とST2+ Treg細胞は増加し、Tr1細胞は減少していた。Foxp3+Treg細胞におけるST2+Treg細胞の比率は、eCRS患者で著明に増加していた。ST2+ Treg細胞はIL-5、IL-13、CD45ROを発現した。eCRS患者のPBMCでは、IL-33がST2+ Treg細胞数を増加させた。IL-33はST2+ Treg細胞の増殖を誘導した。免疫抑制性Treg細胞活性の低下とST2+ Treg細胞数の増加は、eCRSにおけるTh2型炎症を悪化させる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性副鼻腔炎における、ST2+Treg の増加とTr1の減少は、過剰な2型炎症の抑制機構が損なわれている可能性がある。また、ST2+Tregは組織修復の役割も担っており、これらの機能解析も今後の課題である。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study was to clarify the immunosuppressive function of regulatory T cells in the pathophysiology of eosinophilic sinusitis. Relative protein levels of IL-10 and IL-35 were significantly decreased in the NPs of patients with eCRS or non-eCRS. In NPs from eCRS patients, the prevalence of Th2 cells and ST2+ Treg cells was significantly increased, and that of Tr1 cells was significantly decreased. The prevalence of Foxp3+ Treg cells remained unchanged. The ratios of ST2+ Treg cells in Foxp3+ Treg cells were significantly increased in eCRS patients. ST2+ Treg cells expressed IL-5, IL-13, and CD45RO (a memory T cell marker). In cultured PBMCs from eCRS patients, IL-33 increased the number of ST2+ Treg cells. IL-33 induced memory ST2+ Treg cell proliferation. Impaired immunosuppressive Treg cell activity and increased number of ST2+ Treg cells may accelerate Th2-type inflammation in eCRS.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 抑制性T細胞 ST2

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

好酸球性鼻副鼻腔炎は、ステロイド以外に有効な薬物療法がなく、手術しても再発しやすい難治性疾患である。現在、上皮細胞由来サイトカインや2型自然リンパ球をはじめとした自然免疫が病態形成に関わっていることが分かっている。一方、生体内には免疫抑制機構の存在が想定されているが、好酸球性鼻副鼻腔炎の病態での役割は未解明である。本研究では、好酸球性副鼻腔炎での免疫抑制機構について、特に制御性 T 細胞や、抗炎症作用を有する IL-27、抑制系サイトカインである IL-10、IL-35、TGF- β の機能を明らかにする。免疫抑制機構をターゲットとした新たな治療手段の開発につなげることを目的とする。

2. 研究の目的

本研究は、好酸球性鼻副鼻腔炎の病態における防御因子の役割について、制御性 T 細胞サブセット (Tr1, Th3, Foxp3+Treg) と Th2-like Treg、抑制系サイトカインである IL-27, IL-35, IL-10, TGF- β の役割と機能を中心に明らかにすることを目的とする。好酸球性鼻副鼻腔炎の病態における防御因子について、制御性 T 細胞サブセット (Tr1, Foxp3+Treg, Th2-like Treg) と抑制系サイトカイン (IL-27, IL-35, IL-10, TGF- β) の役割に着目した他の研究はこれまでになく、特に好酸球性炎症における Th2-like Treg の誘導や役割については、未解明である。Th2-like Treg を特定し、その動態と機能を明らかにできれば、難治性好酸球性炎症の病態解明の一助になると考えられる。

3. 研究の方法

検討するのは - の項目である。鼻粘膜組織と末梢血単核球における制御性 T 細胞サブセットの同定と病態との関わり。鼻粘膜組織と血清中の抑制系サイトカイン (IL-27, IL-35, IL-10, TGF- β) 測定と FACS を利用した産生細胞の同定。好酸球性慢性炎症のマウス鼻炎モデルにおける、制御性 T 細胞と抑制系サイトカインの役割と、新たな局所治療薬の検討。1) 臨床検体 (鼻粘膜組織や鼻茸、末梢血単核球、血清) を用いた検討 1. 鼻粘膜組織と末梢血単核球中の制御性 T 細胞サブセット (Tr1, Foxp3+Treg) と Th2-like Treg の割合について、FACS を利用して計測する。また、制御性 T 細胞において抑制系サイトカインが発現しているか FACS で調べる。2. 抑制系サイトカイン (IL-27, IL-35, IL-10, TGF- β , IFN- γ) の濃度が鼻副鼻腔粘膜や血清で低下しているということ、ELISA 法、免疫組織化学法を用いて示す。そこで組織中のサイトカイン局在を免疫組織化学法で示し、血清中のサイトカイン濃度を ELISA 法で検討する予定である。2) 培養末梢血単核球を用いた検討 3. 末梢血単核球を IL-2 と IL-33 で刺激し Th2 細胞や Th2-like Treg を誘導する。さらに、刺激因子を投与してフローサイトメトリーで細胞数を測定し、誘導を活性化させ IL-5/IL-13 産生を促進する因子と、抑制する因子が何なのかを明らかにする。4. 末梢血単核球を利用して、Th2 サイトカイン産生に対する抑制系サイトカインによる抗炎症作用を、培養細胞上清を ELISA 法で測定し検討する。近年、酪酸、プロピオン酸などの短鎖脂肪酸に抗炎症作用があることが注目されており、短鎖脂肪酸や PGE2 アゴニストなど、抗炎症物質により抑制系サイトカイン産生を誘導できるか検討する。3) 好酸球性慢性炎症マウス鼻炎モデル (ダニとアルテルナリア、黄色ブドウ球菌由来プロテアーゼの多抗原点鼻刺激で作成) を用いた検討 5. 鼻粘膜組織や鼻腔洗浄液、血清中の抑制系サイトカイン (IL-27, IL-35, IL-10, TGF- β) の産生量と局在、末梢血単核球における制御性 T 細胞サブセットと Th2-like Treg について、免疫組織化学や ELISA、FACS を用いて、多抗原刺激後 1、2、4 カ月と経時的に明らかにする。6. 抑制系サイトカイン、ILC2 を抑制する IFN- γ の点鼻、腹腔内投与や、短鎖脂肪酸 (酪酸、プロピオン酸) の点鼻・経口投与、PGE2 アゴニストの点鼻投与などにより、好酸球性炎症が抑制できるか、鼻粘膜組織や鼻腔洗浄液中のサイトカイン (IL-25, IL-33, TSLP, IL-5, IL-13) 量、血清中の特異的 IgE、組織への好中球・好酸球浸潤、上皮の杯細胞化生について検討する。

4. 研究成果

制御性 T 細胞 (Treg) は、その免疫制御活性により、免疫系の恒常性維持や免疫寛容に重要な役割を担っている。近年、ST2 (IL-33 受容体) と Foxp3 の発現により、ST2+ Tregs の存在が知られている。IL-33 の存在下では、ST2+ Tregs は免疫抑制活性を失い、Type2 炎症を誘発する。好酸球性副鼻腔炎の病態生理における制御性 T 細胞の免疫抑制機能を明

らかにすることを目的に検討を行った。ST2+Treg では、ST2-Treg と比較して、IL-5 および IL-13 の発現が高く、ST2+Treg が 2 型サイトカインである IL-5 および IL-13 を産生することが示された。ST2+Treg の多くは、メモリーT細胞のマーカである CD45RO を発現しており、ST2+Treg がメモリー機能を有していることが示唆された。Th2 細胞、ST2+Treg および Tr1 の役割を調べるために、好酸球性副鼻腔炎および非好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸における Th2、Foxp3+ Treg、ST2+Treg および Tr1 の割合を比較検討した。CD4+ T 細胞における Th2 細胞の割合は、非好酸球性副鼻腔炎患者のものと比較して好酸球性副鼻腔炎患者で有意に増加していた。CD4+ T 細胞中の Foxp3+ Treg の割合は差がなかったが、ST2+Treg の割合は、非好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸およびコントロール被験者の鉤状突起のものと比較して、好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸で有意に増加した。好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸では、Foxp3+ Treg 細胞中の ST2+Treg の比率が有意に上昇し、Foxp3+ Treg 細胞の 60%以上が ST2+Treg で占められていた。好酸球性副鼻腔炎における、ST2+Treg の増加と Tr1 の減少は、過剰な 2 型炎症の抑制機構が損なわれている可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------