

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790952

研究課題名（和文） アレルギー性気道炎症における IL-33 誘導性 Th17 細胞の解析

研究課題名（英文） The analysis of IL-33 inducible Th17 cells in allergic airway inflammation

研究代表者

大野 建州 (OHNO TATSUKUNI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80435635

研究成果の概要（和文）：IL-33は、主にIL-4/IL-13依存的な好酸球の浸潤を誘導し、アトピー型喘息の発症との関わりが深い。本研究ではマウスにIL-33を吸入させるとIL-17依存性の肺に好酸球浸潤だけでなくTh17/IL-17依存的な好中球浸潤を誘導することに注目し、IL-33によるTh17分化誘導機構を明らかにすることを目的とした。Th17分化誘導因子であるIL-6を欠損するマウスにIL-33を吸入させても所属リンパ節でのTh17細胞は正常に認められた。IL-33によるTh17細胞分化誘導機構はIL-6依存性の既知の機構とは異なることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：IL-33 leads to induction of eosinophilic inflammation in the pulmonary mucosa through the IL-4 and IL-13-dependent pathway in mouse asthma model. Taken together, it is thought be that IL-33 may have crucial role in induction of atopic asthma. It is well known that IL-6 induces Th17 cells differentiation. The development of Th17 cells in regional LNs in IL-33 inhaled IL-6 deficient mice is similar to that in wild type mice. These results suggest a novel mechanism for the IL-6 independent Th17 cells differentiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1600000	480000	2080000
2011年度	1400000	420000	1820000
年度			
年度			
年度			
総計	3000000	900000	3900000

研究分野：医歯薬学

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、IL-17、Th17、アレルギー性気道炎症

### 1. 研究開始当初の背景

インターロイキン-33 (IL-33) は、2005年に同定された IL-1 ファミリーサイトカインであり、同じ IL-1 ファミリーに属する IL-1b や IL-18 と構造が類似している。IL-33 は主に Th2 型の免疫応答を誘導し、寄生虫感染に対する生体防御やアレルギー疾患発症や症状の増悪に深く関与することが、多くの研究で示されている。実際に、いくつかの大規模なゲノムワイドな疾患感受性遺伝子解析の結果、IL-33 と IL-33 受容体 ST2 遺伝子の喘息発症との関連が認められている。

喘息はアトピー型 (Th2 優位な好酸球性炎症) と非アトピー型 (好中球性炎症) に大別される。マウスを用いた解析から、好中球の浸潤を主徴とする非アトピー型の気道炎症は Th17 細胞からの IL-17 が関わっていることが報告されている。また、アトピー型喘息の患者のうち、治療薬のステロイドが効きにくく、気道リモデリングが進行している重症患者では好酸球と好中球の両方の細胞浸潤が主徴として観察されている。

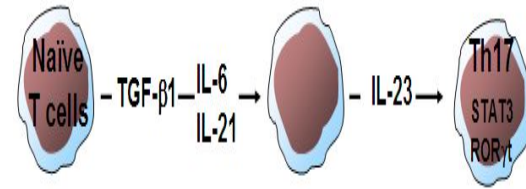
Th17 細胞の分化には IL-6、IL-23、IL-1、TNF が重要な因子であることが報告されている。申請者は、マウスに IL-33 を吸入させると、肺組織に好酸球だけでなく好中球の浸潤を誘導し、肺所属リンパ節では、Th2 細胞だけでなく Th17 細胞の増加を誘導することを見いだしていた。

### 2. 研究の目的

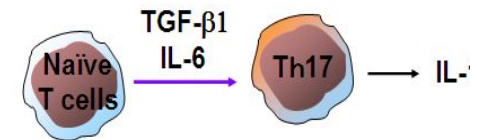
(1) 喘息はアトピー型 (Th2 優位な好酸球性炎症) と非アトピー型 (Th17 優位な好中球性炎症) に分類される。IL-33 によって誘導される好中球浸潤を主徴とした非アトピー性喘息のマウスモデル実験系、およびその評価の確立を行う。これら確立した実験系を用いて、好中球の浸潤を伴うアトピー型重症喘息や非アトピー型喘息の発症機構を正しく理解する。

(2) これまでに知られていない IL-33 による Th17 細胞の分化促進作用に依存したアレルギー疾患の発症機序を分子—細胞—個体レベルで明らかにする。

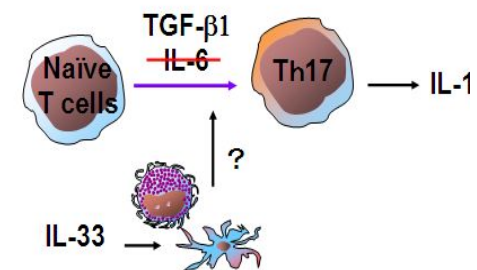
### 既知のTh17分化誘導因子



既知のIL-6依存経路によるTh17分化



IL-6非依存経路によるTh17分化



3. 研究の方法  
IL-33 の吸入による気道炎症の解析法：0.5 ng の IL-33 をイソフルラン麻酔下で点鼻によりマウスに吸入させる。気道炎症の指標として、肺胞洗浄液中の炎症細胞プロファイルサイトをサイトスピニンおよびギムザ染色を用いて解析する。さらに肺所属リンパ節における CD4T 細胞のサブセッ

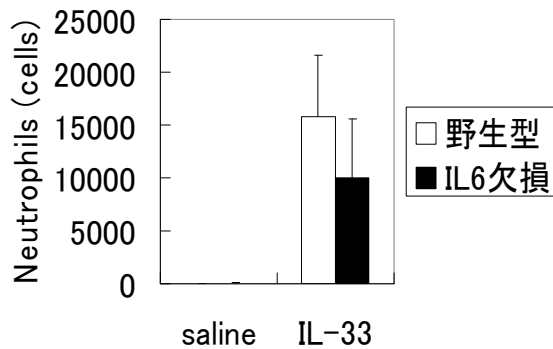
トをフローサイトメトリーを用いて解析する。各種サイトカインノックアウトマウスを用いて上記実験を行うことによりどのような因子が IL-33 誘導性の Th17 分化誘導に重要であるか評価する。

### 4. 研究成果

(1) IL-33 を吸入させたマウスでは肺組織に好酸球だけでなく好中球の浸潤を誘導し、肺所属リンパ節では Th2 細胞のみならず Th17 細胞の増加が誘導された。このことから IL-33 を介した好中球浸潤および Th17 細胞分化誘導機構の存在が示唆された。

(2) IL-17 欠損マウスに IL-33 を吸入させると、好中球の浸潤が抑制された。このことから IL-33 吸入による好中球浸潤は IL-17 依存な機構が働いていることが示唆された。

(3) Th17 分化誘導因子である IL-6 欠損マウスでは IL-33 吸入による好中球浸潤が野生型と比較して抑制されなかった。さらに肺所属リンパ節では Th17 細胞が誘導された。このことから、IL-33 が IL-6 非依存的に Th17 細胞の分化を誘導していることが示唆された。



(4) IL-6以外の既知のTh17分化誘導因子であるIL-1, IL-23, TNF欠損マウスにおいてもIL-33吸入による好中球浸潤および肺所属リンパ節におけるTh17細胞の誘導が抑制されないことを確認した。

一方、IL-33欠損マウスでは卵白アルブミン誘導性マウス喘息モデルにおいて誘導される好中球浸潤は野生型と同程度であった。これらの結果から既知のIL-6、IL-23、IL-1、TNFなどのサイトカイン依存的なTh17細胞分化誘導機構以外のIL-33によるTh17細胞分化誘導機構が存在することが強く示唆された。

これらの結果からIL-33は、既知のTh17細胞分化機構ではなく、新規のTh17細胞分化機構依存的にTh17細胞を誘導し、好酸球浸潤のみならず、好中球浸潤を伴う非アトピー型喘息の病態形成に関与していることが示唆された。

#### 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)

- Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwara N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K and Nakae S. Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice. 査読あり, Allergol Int. 2012, 61(2):265-73
- Ohno T, Oboki K, Morita H, Kajiwara N, Arae K, Tanaka S, Ikeda M, Iikura M, Akiyama T, Inoue J, Matsumoto K, Sudo K, Azuma M, Okumura K, Kamradt T, Saito H and Nakae S. Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. 査読あり, PLoS One. 2011, 11;6(4):e18404.
- Arae K, Oboki K, Ohno T, Hirata M, Nakae S, Taguchi T, Saito H and Nakajima T. Cimetidine enhances antigen-specific

IgE and Th2 cytokine production. 査読あり, Allergol Int. 2011, 60(3):339-44.

- Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Sudo K, Okumura K, Saito H and Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. 査読あり, Proc Natl Acad Sci USA. 2010, 107(43):18581-6.
- Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, and Nakae S. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. Allergol Int. 2010 Jun;59(2):143-60. Oboki K, Ohno T, Saito H, and Nakae S. Th17 and Allergy. 査読あり, Allergol Int. 2008, 57(2):121-34
- Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, and Nakae S. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. 査読あり, Allergol Int. 2010, 59(2):143-60.
- 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. 査読あり, Allergol Int. 2010, 59(4):399-408.
- Yagami A, Kajiwara N, Oboki O, Ohno N, Morita H, Sunnarborg SW, Okumura K, Ogawa H, Saito H, and Nakae S. Amphiregulin is not essential for induction of contact hypersensitivity. 査読あり, Allergol Int. 2010, 25;59(3).
- Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Ishii A, Sunnarborg SW, Okumura K, Saito H, and Nakae S. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice. 査読あり Allergol Int. 2010, 59(2):207-11.
- 大野建州, 東みゆき, 中江進: IL-33と慢性アレルギー炎症。査読なし、実験医学、2012、30、918-925
- 大保木啓介, 大野建州, 梶原直樹, 斎藤博久, 中江進: 疾患におけるIL-33とIL-33受容体の役割。査読なし、実験医学、2010、28、162-166。
- 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。臨床免疫・アレルギー科、2010、53、29-35。

[学会発表] (計3件)

- Ohno T, Azuma M, Nakae S. Paracrine

IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. 98th AAI Annual Meeting, American Association of Immunologists, Immunology 2011, 2011.5.18-23, San Francisco, USA.

2. 大保木啓介、大野建州、梶原直樹、新江賢、森田英明、石井明奈、南部あや、阿部高也、清成寛、松本健治、須藤カツ子、奥村康、斎藤博久、中江進「IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity」第20回東京免疫フォーラム（東京）、2011年2月22日
3. 大野建州、東みゆき、中江進  
Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. 第40回日本免疫学会学術集会、2011年11月27日幕張

〔図書〕（計1件）

大野建州、中江進：第3章 第2節 第17項 IL-33, p339-347, 疾患モデルの作製と利用－免疫疾患、岩倉洋一朗 編集、エル・アイ・シー 2011.6 発行

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

大野 建州 (Ohno Tatsukuni)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80435635

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：