

## 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 25 年 5 月 8 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22791594

研究課題名（和文）TSLP, IL-25, IL-33 による鼻副鼻腔疾患誘導メカニズムの解明

研究課題名（英文）The role of epithelial derived cytokines (TSLP, IL-25, IL-33) in the airway diseases

研究代表者

神前 英明 (KOUZAKI HIDEAKI)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：10402710

研究成果の概要（和文）：気道・鼻粘膜上皮細胞で産生されるサイトカインである TSLP, IL-25, IL-33 に注目し、外来抗原に含まれるプロテアーゼにより、これらサイトカインが放出・産生される機序を解明した。IL-33 は ATP 受容体を介して上皮細胞から放出されること、また、IL-25 は上皮細胞から ATP 受容体や PAR-2 受容体を介した放出・産生が認められることが分かった。好酸球副鼻腔炎患者の鼻茸上皮細胞では TSLP, IL-25, IL-33 発現が亢進しており、これらサイトカインが好酸球性副鼻腔炎の病態悪化につながっていることが推定された。

研究成果の概要（英文）：We focused attention on TSLP, IL-25, IL-33 which are the cytokines produced by the respiratory tract and nasal-mucosa epithelial cells and found out that these cytokines are regulated by the allergen proteases in the airway epithelial cells. IL-33 was released from epithelial cells through an ATP receptor. In addition, IL-25 was regulated through the ATP receptor and PAR-2 receptor on the epithelial cells. The expression of TSLP, IL-25, and IL-33 in the epithelial cells of nasal polyp in the patients with eosinophilic chronic sinusitis, were up-regulated. It was presumed that these cytokines lead to development and exacerbation of eosinophilic chronic sinusitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：サイトカイン、上皮細胞、好酸球性副鼻腔炎、アレルギー、抗原

### 1. 研究開始当初の背景

気道の粘膜表面を覆う上皮細胞は、吸入抗原に対する物理的なバリアーというだけでなく、炎症病態の形成や免疫応答に直接関与する重要な役割を担っている。また、さまざまな刺激や免疫応答に反応して多くのサイトカイン、ケモカインを放出することから、

新たな治療の標的細胞としての可能性が考えられる。近年同定された TSLP, IL-25, IL-33 は、気道上皮細胞から産生され、主として Th2 サイトカイン依存的な免疫応答の調節に関わり (Saenz SA, Immunol Rev. 2008)、アレルギー性鼻炎を含めた鼻副鼻腔疾患の病態形成 (Th2 サイトカイン産生、免疫グロブリン (IgE, IgG(1), IgA) 産生、好酸球浸潤、

ムチン産生亢進、杯細胞化生、上皮細胞過形成など)に深く関与していると推測されている。

我々はこれまでに、気道上皮細胞における TSLP 産生のメカニズムを検討し、空中抗原に含まれる蛋白分解酵素(プロテアーゼ)が上皮細胞の Protease-activated receptor-2 受容体を介して TSLP 産生を誘導することを報告した(Kouzaki H, et al, J Immunol 2009)。IL-33、IL-25 に関しては、気道上皮細胞にこうしたサイトカインが存在することは報告されているが、蛋白産生を調節するメカニズムについては未だ不明のままである。

現在、TSLP、IL-25、IL-33 に関しては、基礎研究が先行し、*In vitro*、*In vivo*でサイトカイン分泌細胞、受容体の局在や役割、分泌のメカニズム、細胞内シグナル、サイトカインが導く Th2 依存的免疫応答が次々と報告されている(Schmitz J, et al, Immunity 2005, Ziegler SF, Nat Immunol. 2006, Angkasekwinai P, et al, J Exp Med. 2007)、ヒト鼻副鼻腔疾患に関する臨床研究は殆どない。我々耳鼻咽喉科医が、上気道炎症の病態を解明し治療するに際して、明確にしなければならぬ課題であると考えられる。

## 2. 研究の目的

鼻副鼻腔疾患において鼻粘膜上皮細胞から産生される TSLP、IL-25、IL-33 の役割を明らかにすること。

## 3. 研究の方法

鼻汁や手術時に採取した鼻茸、鼻副鼻腔粘膜を利用して、TSLP、IL-25、IL-33 やその受容体の発現と局在を検討し、疾患特異的な変化を検討する。

鼻粘膜上皮の培養細胞を利用して TLR ligands や各種のサイトカイン(INF- $\gamma$ 、IL-4、IL-13、TNF- $\alpha$ )などによる TSLP、IL-25、IL-33 産生に対する影響、一方で TSLP、IL-25、IL-33 による粘液産生や増殖因子(PDGF、VEGF、TGF- $\beta$  など)産生に対する影響も検討する。

LPS 刺激とアレルギー性炎症によるラット鼻粘膜上皮の炎症モデルを利用して TSLP、IL-25、IL-33 やその受容体発現について検討し、それぞれの中和抗体や siRNA 投与による抗炎症作用について検討する。

## 4. 研究成果

(1) 気道上皮細胞を用いアルテナリアコクローチなどのアレルギー刺激により、ア

レルギー性炎症を引き起こす IL-33 が産生されることが分かった。上皮細胞は抗原刺激により ATP が産生され、その受容体を介して、細胞内カルシウム濃度が増加することで細胞内の核に存在する IL-33 が放出される機序を世界に先駆けて明らかにした。

(2) 気道上皮細胞から IL-25 産生の機序についても研究を行った。IL-25 が細胞外に誘導されるには、2通りの機序があり、細胞内に恒常的に存在する IL-25 が ATP 受容体を介して放出される経路とダニ抗原をはじめとするプロテアーゼ(蛋白分解酵素)の刺激が細胞に局在する PAR-2 受容体を介して産生される経路があることが分かった。正常鼻粘膜上皮細胞でも、ダニ抗原をはじめとする各種抗原で IL-25 が産生されることが分かった。

## 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4件)

- ① Kouzaki H, Tojima I, Kita H, Shimizu T. Transcription of interleukin-25 and extracellular release of the protein is regulated by allergen proteases in airway epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol. 2013(in press) (DOI : 10.1165/rcmb.2012-03040C 査読有り)
- ② 神前英明、清水猛史. 免疫アレルギー学の最前線 IL-25誘導によるアレルギー性炎症. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー. 30: 237-242, 2012. (DOI : <http://dx.doi.org/10.5648/jjiao.30.237> 査読有り)
- ③ Kouzaki H, Iijima K, Kobayashi T, O'Grady SM, Kita H. The danger signal, extracellular ATP, is a sensor for an airborne allergen and triggers IL-33 release and innate Th2-type responses. J Immunol. 186:4375-87, 2011. (DOI : 10.4049/jimmunol.1003020. 査読有り)
- ④ 神前 英明, 紀太 博仁, 清水 猛史. 上皮細胞から放出される IL-33 とその役割. 日本鼻科学会誌. 50; 46-50, 2011. (DOI:<http://dx.doi.org/10.7248/jjrhi.50.46> 査読有り)

[学会発表] (計 10 件)

- ① Kouzaki H, Tojima I, Kita H, Shimizu T. Transcription of Interleukin-25 and Extracellular Release of the Protein Is Regulated by Allergen Proteases in Airway Epithelial Cells. AAAAI 2013 Annual Meeting, 2013. 2. 25 USA
- ② 神前英明、戸嶋一郎、紀太博仁、清水猛史. 抗原暴露による上皮細胞にける IL-25 誘導のメカニズム、第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2012. 11. 30, 大阪
- ③ 神前英明、清水志乃、清水猛史. 副鼻腔粘膜上皮細胞からみた好酸球性副鼻腔炎、第 51 回日本鼻科学会、2012. 9. 29, 千葉
- ④ 神前英明、戸嶋一郎、紀太博仁、清水猛史. プロテアーゼは気道上皮細胞において PAR-2 受容体を介して IL-25 産生を誘導する. 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2012. 2. 17, 滋賀
- ⑤ 神前英明、紀太博仁、清水猛史. 空中アレルギーは ATP を介して IL-33 を放出させ、Th2 タイプの自然免疫反応を引き起こす. 第 61 回 日本アレルギー学会秋季学術大会、2011. 11. 10, 東京
- ⑥ 神前英明、紀太博仁、清水猛史. 上皮細胞から放出される IL-33 とその役割. 第 41 回日本職業・環境アレルギー学会、2011. 6. 3, 名古屋
- ⑦ Kouzaki H, Iijima K, Kobayashi T, Scott M. O' Grady, Kita H, ATP-mediated release of nuclear IL-33 triggers innate Th2-type response to airborne allergen, AAAAI 2011 Annual Meeting 2011. 3. 20 USA
- ⑧ 神前英明、紀太博仁、清水猛史. 空中アレルギーは ATP を介して IL-33 を放出させ、Th2 タイプの自然免疫反応を引き起こす. 第 29 回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー

学会、2011. 2. 11, 大分

- ⑨ 神前英明、紀太博仁、清水猛史. 気道上皮細胞由来の IL-33 の放出とその役割. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010. 11. 25, 東京
- ⑩ 神前英明、紀太博仁、清水猛史. 気道上皮細胞由来の IL-33 の放出とその役割. 第 49 回日本鼻科学会・2010. 8. 26, 札幌

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○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

神前 英明 (KOUZAKI HIDEAKI)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：10402710

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

清水 猛史 (SHIMIZU TAKESHI)

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：00206202

紀太 博仁 (KITA HIROHITO)

米国マイヨクリニック・アレルギー免疫部門・教授

研究者番号：なし

