

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 16 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011 年度～2012 年度

課題番号：23790450

研究課題名（和文）抗ハプテン IgE によるアレルゲン多様化モデルの検討

研究課題名（英文）Role of hapten-specific IgE in allergen diversification

研究代表者

安田 好文 (YASUDA KOUBUN)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50333539

研究成果の概要（和文）：

本研究ではハプテンなど抗原の一部に共通の IgE エピトープがあれば、IgE がアジュバントとなって同じハプテンの結合した別のキャリアタンパク抗原に対する IgE が作られることが明らかとなった。そのメカニズムとして、好塩基球が IgE 依存性に IL-4 を産生し、Th2 細胞を誘導することで、一つの抗原がアレルゲンになることをきっかけに、多様な抗原に対しても Th2 細胞が誘導され、IgE を産生する。

研究成果の概要（英文）：

When a hapten specific IgE binds hapten-labeled protein antigen, it acts as adjuvant to induce the carrier protein antigen specific IgE. By stimulation with IgE / antigen immune complex on Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ , basophil produces IL-4 and presents antigen to CD4+T cells to induce Th2. Thus, an allergen can diversify Th2 / IgE repertoire by hapten-specific IgE.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：疾患モデル動物、アレルギー、IgE、好塩基球、IL-4、ハプテン

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー疾患は Th2 細胞や IgE による過剰な免疫応答であり、一度発症すると多くの場合、次第に増悪していき、またアレルゲンが多様化することも少なくない。しかし、アレルゲンが多様化していく理由は、遺伝的な場合もあるが、ほとんどは「アレルギー体質」といわれるだけで不明である。では多様なアレルゲンに対する Th2 細胞はいかにして誘導されるのだろうか。ナイーブ T 細胞をエフェクター細胞に分化させる細胞は樹状細胞と考えられてきたが、樹状細胞は Th2 細胞誘導に必須の IL-4 を産生できない。そこで我々は IL-4 産生細胞として、好塩基球に着目した。申請者らは以前、IL-33 が好塩基球

から IL-4/IL-13 を産生誘導することを報告した (Kondo, Yasuda et al. Int Immunol, 2008)。さらに最近、我々の着目通り、好塩基球が Th2 誘導性の APC として働くことを明らかにした (Yoshimoto, Yasuda et al. Nat Immunol, 2009)。この論文では、DNP-OVA (Dinitrophenol-Ovalbumin) / 抗 DNP-IgE 複合体 (immune complex ; IC) を投与したマウスで OVA 特異的 Th2 および IgE が好塩基球依存的に誘導されることを証明した。つまり、初めに存在する IgE とは異なる IgE が産生されたということである。そこで申請者はこの実験系より次のような新たなアレルギー増悪機構を着想するに至った。

花粉などのアレルゲンはその表面に糖鎖などの比較的共通の構造を持っている。この糖鎖(ハプテン)などに対する IgE ができると、次に同じハプテンを持つ抗原(キャリアー)が生体に侵入した際にはハプテン結合抗原/抗ハプテン IgE 複合体が形成される。これを取り込んだ好塩基球は IL-4 を産生すると共に、ハプテンが結合したキャリアー由来ペプチドを T 細胞に提示する。その結果、キャリアーに対する Th2 細胞が誘導され、IgE が作られると考えられる。つまり、あるハプテンに対する IgE を持っている、共通のハプテンが結合した多様なキャリアー抗原が次々にアレルゲンになっていく可能性がある。通常はアジュバントがなければ抗原単独では IgE は誘導されず、抗原はアレルゲンにはならない。

## 2. 研究の目的

アレルギーの発症におけるアレルゲン特異的 Th2 細胞が誘導されるメカニズムは未だに明らかではない。本研究では好塩基球が IgE 依存性に Th2 細胞を誘導すること、特に抗ハプテン IgE 抗体が存在すると、好塩基球を介してキャリアータンパクに対する Th2 が誘導されることを示し、一つの抗原がアレルゲンになることをきっかけに、多様な抗原に対しても Th2 細胞の誘導、さらに IgE を産生する機序を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

DNP-HSA (human serum albumin) / alum の腹腔内投与で免疫したマウスに DNP-OVA, OVA を続けて尾静脈より投与すると血中に抗 OVA-IgE 抗体が産生されること明らかにする。また好塩基球を特異的に除去する抗体を予め投与して好塩基球依存的であることを証明する。またこのとき好塩基球が IL-4 を産生することを示す。

さらに、この実験系における好塩基球、樹状細胞の役割を解析し、分子、細胞レベルでメカニズムを明らかにする。

## 4. 研究成果

DNP-HSA / alum で免疫し、内因性の DNP 特異的 IgE を誘導したマウスに、DNP-OVA, OVA を連続して投与すると、DNP や HSA に対する抗体のみならず、OVA 特異的 IgE を誘導できた。この IgE 誘導における好塩基球の関与を検討するため、抗 FcεR1α抗体を DNP-OVA 投与前に投与しておく、この OVA 特異的 IgE 産生は抑制された。つまり、この IgE 産生には好塩基球が関与することが明らかとなった。また、IL-4 を産生すると GFP を発現するレポーターマウスに DNP-HSA / alum で免疫し、DNP-OVA を投与したところ、好塩基球が GFP 陽性にな

ったことから、好塩基球が DNP-OVA に反応して活性化し、IL-4 を産生すると考えられる。通常抗原のみを投与した場合には IgE 抗体は誘導されないが、この場合は抗 DNP-IgE に結合した DNP-OVA が FcεR1α を介して好塩基球に取込まれ、好塩基球が抗原提示と IL-4 産生を介して T 細胞を Th2 細胞へ分化誘導し、さらに投与された OVA がこの Th2 細胞と B 細胞を活性化して IgE 産生が誘導されたと考えられた。

次に、免疫複合体で Th2 細胞が誘導されるメカニズムを抗原提示細胞に焦点をあてて解析した。IgE 免疫複合体(IC)免疫における好塩基球と樹状細胞の関与を調べるため、CD11cDTR マウスの骨髄細胞を野生型マウスに移植し、DT を投与して樹状細胞を欠損するマウスを作製した。樹状細胞除去後、D011.10 CD4 陽性 T 細胞と IC を投与して OVA 特異的 T 細胞応答を検討したところ、樹状細胞欠損マウスでは T 細胞の反応は減弱していた。一方、DNP-HSA / alum で免疫したマウスに DNP-OVA, OVA を投与して OVA 特異的 IgE を誘導する際に、抗 FcεR1α抗体投与によって好塩基球を除去すると IgE 産生が抑制されることから、IC を投与した場合、IC は好塩基球と樹状細胞の両方に取込まれ、抗原提示をして T 細胞を活性化し、好塩基球由来の IL-4 によって Th2 誘導あるいは B 細胞クラススイッチが起こっていると考えられる。

本研究により、ハプテンなど抗原の一部に共通の IgE エピトープがあれば、IgE がアジュバントとなって好塩基球を活性化し、新たな抗原に対する IgE が作られることが明らかとなった。このメカニズムにより多様な抗原に対して IgE を産生してアレルギーを引き起こす可能性があることから、IgE や好塩基球をターゲットとしたアレルギー治療戦略が有効と考えられる。

また、IgE によるアレルギー反応のモデルとして、大量の IgE が非特異的に産生される蠕虫感染時にみられる好酸球性肺炎について、その発症メカニズムを検討した。蠕虫感染時には強力に Th2 型免疫応答が誘導され、IgE や好酸球が誘導される。従来この好酸球性肺炎は寄生虫に対するアレルギー反応と考えられてきた。しかし、糞線虫を用いた我々の研究では、Th2 細胞、IgE が存在しない Rag2 欠損マウスでも好酸球性肺炎が誘導されることを見出した。さらに、この好酸球性肺炎が II 型肺胞上皮細胞から産生される IL-33 が II 型自然リンパ球を誘導、刺激することで大量の IL-5, IL-13 を産生し、好酸球を集積する自然免疫応答で発症することを見出した。

## 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 5 件)

(1) Matsumoto M, Sasaki Y, Yasuda K, Takai T, Muramatsu M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IgG and IgE Collaboratively Accelerate Expulsion of *Strongyloides venezuelensis* in a Primary Infection. Infect Immun. 2013; 81(7):2518-27. 査読あり doi: 10.1128 /IAI. 00285-13.

(2) 安田好文. 寄生虫感染と宿主粘膜免疫の攻防におけるIL-33 とII型自然リンパ系細胞の役割. 実験医学 2012;30(20)165-71. 査読なし

(3) 安田好文, 中西憲司. 自然免疫による好酸球性肺炎発症機構. 医学のあゆみ 2012;243(1): 91-7. 査読なし

(4) 安田好文, 中西憲司. 蠕虫の排除と自然免疫・獲得免疫. 臨床免疫・アレルギー科. 2012; 57(3):307-15. 査読なし

(5) Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Taki Y, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishii K, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. Proc Natl Acad Sci USA 2012;109(9):3451-6 査読あり doi: 10.1073/pnas.1201042109.

[学会発表] (計 22 件)

(1) Yasuda K, Muto T, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in *Strongyloides venezuelensis*-infected mice. Keystone Symposia, Type 2 Immunity: Initiation, Maintenance, Homeostasis and Pathology, 2013. 1.10-15, Santa Fe, NM, USA

(2) Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishii K, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in *Strongyloides venezuelensis*-infected mice. 第 41 回日本免疫学会学術集会 2012. 12. 5-7 神戸

(3) 安田好文, 武藤太一朗, 松本真琴, 中西憲司. 蠕虫感染による好酸球性肺炎は自然免疫応答で誘導される. 第 68 回日本寄生虫学会西日本支部大会 2012. 10. 26-27 奈良

(4) Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto

M, Sasaki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishii K, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. Contribution of IL-33 activated natural helper cells to IL-5 production and eosinophil accumulation in intestinal nematode infected mice. The 34th Naito Conference, 2012. 10. 16-19 札幌

(5) Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Taki Y, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishii K, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. 第 77 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2012. 6. 21-22 神戸

(6) 安田好文. 糞線虫感染時に肺でみられる好酸球性炎症発症機序の解析. (シンポジウム) 第 81 回日本寄生虫学会 2012. 3. 23-24 西宮

(7) Yasuda K. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode infected mice. The 5th Immunoparasitology Meeting 2012. 3. 1-2 Osaka

(8) 安田好文. サイトカイン産生細胞としての好塩基球、好酸球の機能解析. テクニカルセミナー 第 40 回日本免疫学会会・学術集会 2011. 11. 27-29 千葉

(9) 安田好文, 武藤太一朗, 今井康友, 松本真琴, 佐々木由紀, 高城ゆう子, 弓倉静英, 善本知広, 中西憲司. Contribution of IL-33 activated natural helper / nuocyte-like cells to IL-5 production and eosinophil accumulation in intestinal nematode infected mice. 第 40 回日本免疫学会総会・学術集会 2011. 11. 27-29 千葉

(10) Yasuda K, Sasaki Y, Matsumoto M, Taki Y, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides venezuelensis* International Union of Microbiological Societies 2011 congress. 2011. 9. 6-10 札幌

(11) 安田好文, 佐々木由紀, 松本真琴, 高城ゆう子, 善本知広, 中西憲司. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides venezuelensis*. 第 80 回日本寄生虫学会大会 2011. 7. 17-18 東京

(12) Yasuda K, Sasaki Y, Matsumoto M, Taki Y, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides*

*venezuelensis*. The Joint International Meeting Sponsored by The Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The Japanese Society for Macrophage Molecular and Cell Biology (JSICR-MMCB2011) 2011.5.25-27 Osaka

〔図書〕(計1件)

(1)安田好文, 中西憲司. Th2 アジュバントの作用機序と臨床応用. 石井健, 山西弘一監修. アジュバント開発研究の新展開. 東京:シーエムシー出版, 2011:32-8.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hyo-med.ac.jp/department/immun/page/flame-set.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

安田 好文 (YASUDA KOUBUN)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号: 50333539