

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790484

研究課題名(和文)肺を起点としたアレルギー疾患発症機構の解明

研究課題名(英文)Study on the mechanisms of lung-mediated initiation of allergic diseases.

研究代表者

松下 一史 (Matsushita, Kazufumi)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：20581549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：抗原特異的IgEの産生誘導は喘息をはじめとするI型アレルギー疾患の誘導において極めて重要な役割を担っている。しかしながら、生体内で実際にどのようにIgE産生が誘導されるのかについては未だに完全には明らかにされていない。

これまで、B細胞におけるMyD88シグナルは、抗原特異的な抗体産生には関与しないか、関与してもTh1型の抗体であるIgG2a/cへのクラススイッチにのみ関与すると考えられてきた。ところが今回、我々は肺へのブタクサ花粉曝露によるブタクサ花粉特異的および非特異的IgE/IgG1産生の誘導にはB細胞特異的なMyD88シグナルが重要であることを見いだした。

研究成果の概要(英文)：The production of immunoglobulin E (IgE) has a pivotal role in the development of allergic diseases including asthma. Although molecular mechanism underlying IgE class-switching in B cells has been well studied, how IgE production is induced in disease settings in our body is poorly understood. Previous studies regarding virus infection or autoimmunity reported the role of B-cell-intrinsic MyD88 signaling in Th1-type antibody responses, such as IgG2a/c production. However, the involvement of MyD88 signaling in Th2-type antibody, IgE/IgG1, responses has not been understood. Here, we studied on the IgE and IgG1 responses in intratracheally ragweed pollen exposed mice. We reveal that B-cell-intrinsic MyD88 is critical for IgE/IgG1 responses in pollen-exposed lungs in mice.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：IgE MyD88 B細胞 肺 アレルギー 花粉抗原

1. 研究開始当初の背景

I 型アレルギー疾患に罹患する患者数は我が国を含め先進諸国で増加し続けており、深刻な社会問題となっている。しかしながら、これまでにアレルギー疾患の発症メカニズムの全容解明および根本的な治療法の確立には至っていない。

肺を起点とした抗原の曝露による過剰な Th2 応答の誘導は抗原特異的な IgE 産生を誘導し、アレルギー性喘息をはじめとした重篤な I 型アレルギー疾患を引き起こす。近年、IgE に対する抗体であるオマリズマブが重篤なアレルギー性喘息への適応となり、その有効性が示されてきているように、I 型アレルギー疾患の病態形成には抗原特異的な IgE の産生が深く関わっている。しかしながら、アレルギー性応答において、実際に生体内においてどのように IgE の産生が誘導されるのかについては未だに完全には明らかにされていない。

2. 研究の目的

B 細胞の IgE 産生細胞へのクラススイッチはこれまでによく研究されており、その詳細な分子機構が明らかにされている。ところが実際に生体内において、特にそれぞれの組織において抗原特異的な IgE がどのように誘導されるのかは充分には明らかにされていない。これまで、B 細胞における TLR/IL-1R のアダプター分子である MyD88 を介したシグナルは、抗原特異的な抗体産生には関与しないか、関与しても Th1 型の抗体である IgG2a/c へのクラススイッチにのみ関与すると考えられてきた。本研究ではブタクサ花粉を肺に直接曝露することにより誘導される IgE 産生における MyD88 シグナル、特に B 細胞特異的な MyD88 シグナルの役割についての検討を行った。

3. 研究の方法

本研究ではブタクサ花粉の肺への経鼻投与によるアレルギー応答の惹起を行った。一週間に二度、マウスを麻酔下で PBS に懸濁したブタクサ花粉を経鼻投与し、二週間で合計四回のブタクサ花粉投与を行った。最終投与の 24 時間後マウスの血清を回収し血中のブタクサ花粉特異的 IgE ならびにトータル IgE の濃度を ELISA にて検討した。また、肺門リンパ節からリンパ球を調製し線照射した抗原提示細胞存在下でブタクサ抗原と培養することで培養上清中に産生される Th2 サイトカインを ELISA にて測定した。ブタクサ花粉の肺への曝露によって誘導される IgE 産生および Th2 応答への MyD88 依存性シグナルの役割を検討するために MyD88 欠損マウスを用いて検討を行った。MyD88 欠損マウス脾細胞を Rag2 欠損マウスに移入することで T および B 細胞に特異的に MyD88 を欠損したマウスを作製した。また、MyD88 欠損マウス由来骨髓細胞と μ MT マウス由来骨髓細胞を Rag2 欠損マウスに移入することで B 細胞特異的に MyD88 を欠損した骨髓キメラマウスを作製した。

4. 研究成果

野生型マウスにおいて、肺へのブタクサ花粉の直接曝露は血清中のブタクサ抗原特異的なならびにトータル IgE を上昇させ、肺門リンパ節におけるブタクサ抗原特異的 Th2 細胞の誘導を引き起こした。本モデルにおける MyD88 シグナルの役割を検討するために MyD88 欠損マウスの肺にブタクサ花粉を曝露させたところ、MyD88 欠損マウスでは血清中のブタクサ花粉特異的 IgE の産生が著しく障害されており、非特異的 IgE の上昇も誘導されなかった (Fig. 1)。抗原提示細胞である DC は TLR-MyD88 経路により活性化され獲得免疫応答を誘導することから、この結果は DC のブタクサ花粉に対する応答が障害されたた

めである可能性も考えられた。しかし、肺へのブタクサ花粉の曝露によって誘導される肺門リンパ節への DC の遊走は MyD88 欠損マウスでも野生型と同様に認められ、またブタクサ抗原特異的な Th2 細胞の誘導も正常であった (Fig.2)。したがって、MyD88 欠損マウスにおいてみられて IgE 応答の減弱は DC の機能が阻害されているためではなく、B 細胞において MyD88 からのシグナルが必要である可能性が示唆された。そこで、B 細胞における MyD88 の役割を調べるために、T 細胞および B 細胞をもたない Rag2 欠損マウスに MyD88 欠損マウスもしくは野生型マウス由来脾細胞を移入したマウス、および B 細胞特異的 MyD88 欠損骨髓キメラマウスを作製し同様の検討をおこなった。その結果、いずれのマウスにおいても、野生型マウス由来の細胞を移入した場合に比べて、MyD88 欠損マウス由来の細胞を移入した場合は血清中のブタクサ花粉特異的および非特異的 IgE 抗体濃度が著減していた (Fig.3, 4)。以上より、肺を起点とした抗原曝露により誘導される IgE 産生の誘導には B 細胞における MyD88 依存性シグナルが必須であることが明らかとなった。

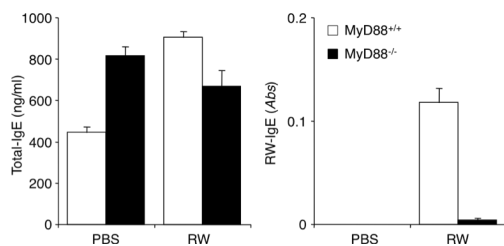


Fig. 1 MyD88 欠損マウスにおける肺へのブタクサ花粉曝露による IgE 産生。

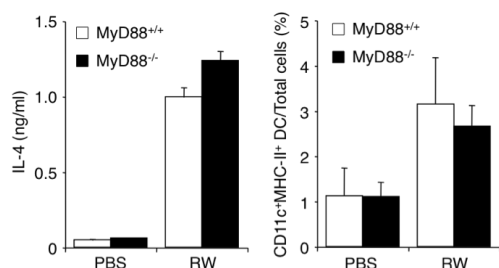


Fig. 2 MyD88 欠損マウスにおける肺へのブタクサ花粉曝露による Th2 応答の誘導および肺門リンパ節への樹状細胞の遊走。

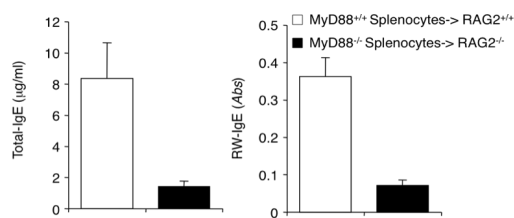


Fig. 3 T/B 細胞特異的 MyD88 欠損マウスにおける肺へのブタクサ花粉曝露による IgE 産生。

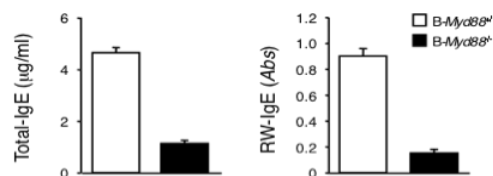


Fig. 4 B 細胞特異的 MyD88 欠損マウスにおける肺へのブタクサ花粉曝露による IgE 産生。

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)

Futatsugi-Yumikura S*, Matsushita K*, Fukuoka A, Takahashi S, Yamamoto N, Yonehara S, Nakanishi K, Yoshimoto T. (*equal contribution) Pathogenic Th2-type follicular helper T cells contribute to the development of lupus in Fas-deficient mice. *Int. Immunol.* 26: 221-231, 2014. 査読有

Uehata T, Iwasaki H, Vandenbon A, Matsushita K, Hernandez-Cuellar E, Kuniyoshi K, Satoh T, Mino T, Suzuki Y, Standley DM, Tsujimura T, Rakugi H, Isaka Y, Takeuchi O, Akira S. Malt1-Induced Cleavage of Regnase-1 in CD4⁺ Helper T Cells Regulates Immune Activation. *Cell* 153: 1036-1049, 2013. 査読有

松下一史, 善本知広 顆粒球のアレルギー疾患におけるあらたな役割, *実験医学増刊号*, 31: 73-79, 2013. 査読無

Haenuki Y, Matsushita K,

Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto T. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 130: 184-194, 2012.
査読有

〔学会発表〕(計9件)

Futatsugi-Yumikura S, Matsushita K, Fukuoka A, Takahashi S, Yamamoto N, Yonehara S, Nakanishi K, Yoshimoto T. Pathogenic Th2-type follicular helper T cells contribute to the development of lupus in Fas-deficient mice. (ワークショップ)第42回日本免疫学会学術集会、千葉、2013年12月11日-13日。

弓倉静英、高橋涼香、松下一史、福岡あゆみ、米原伸、中西憲司、善本知広。BALB/c背景 Fas-/-マウスで活性化された濾胞性ヘルパーT細胞はアレルギー疾患と自己免疫疾患を増悪させる。第63回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2013年11月28日-30日。

Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto T. Ragweed pollen-driven IL-33 contributes to the development of allergic rhinitis. (ワークショップ)第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月5日-7日。

Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishi 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. (ワークショップ)第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月5日-7日。

Muto T, Yasuda K, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishi K, Yoshimoto T, Akira S, Nakanishi K. Chitin induces lung eosinophilia dependently on IL-33. (ワークショップ)第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月5日-7日。

Futatsugi-Yumikura S, Matsushita K, Fukuoka A, Yoshimoto T, Yonehara S, Nakanishi K. Balb/c FasKO mice develop severe autoimmunity, allergy and highly activated Tfh cells. (ワークショップ)第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月5日-7日。

Sarang T, Matsushita K, Takeuchi O, Akira S. Akirin2 as a Conserved Nuclear Factor Involved in NF- κ B Dependant Gene Expression in Inflammation. (ワークショップ)第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012年12月5日-7日。

Yasuda K, Muto T, Kawagoe T, Matsumoto M, Sasaki Y, Matsushita K, Taki Y, Futatsugi-Yumikura S, Tsutsui H, Ishi 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、神戸、2012年6月21日-22日。

Yoshimoto T, Matsushita K, Haenuki Y, Futatsugi-Yumikura S, Fujieda S, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K. A critical role of pollen-driven endogenous IL-33 in allergic rhinitis. (Guest Speech) EAACI Congress. Switzerland. 2012, 16-20 Jul.

〔図書〕(計1件)

Matsushita K, Yoshimoto T. Interleukin-33: A multifunctional alarmin

that promotes both health and disease.
Cytokine Frontiers: Regulation of Immune Responses in Health and Disease. Springer, New York, 267-299, 2014.

〔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

松下 一史 (MATSUSHITA KAZUFUMI)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：20581549

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 研究者協力者

善本 知広 (YOSHIMOTO TOMOHIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60241171