

令和元年5月23日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09573

研究課題名(和文)喘息の杯細胞分化におけるIkBNSの役割と制御機構の解明

研究課題名(英文)The regulation of IkBNS in goblet cell differentiation in asthma

研究代表者

玉地 智宏 (Tamachi, Tomohiro)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：20456015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： atypical IkB蛋白のひとつであるIkBNSの気道上皮細胞における役割として、代表的なムチンであるMuc5acの発現に関わり、気道過敏性に寄与することを示した。IkBNSは杯細胞形成のmaster regulatorとされるSpdef非依存的にMUC5ACの発現に関与しており、MUC5ACのプロモーター領域に直接結合することを明らかにした。またIL-22刺激によりStat3依存的に気道上皮細胞から産生されるReg3は、TSLPとIL-33の発現を抑制することでアレルギー性気道炎症を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気管支喘息の病態はアレルギー性気道炎症であり、その治療は気道炎症を抑制する吸入ステロイド薬を中心に大きく進歩した。しかし5-10%の患者は既存治療に抵抗性であり、気道上皮細胞の関与が考えられるもその機序に依然不明な点が多い。

本研究を通して気道上皮細胞におけるIkBNSの発現が杯細胞形成や気道過敏性に寄与すること、また気道上皮細胞においてIL-22刺激下で産生されるReg3がアレルギー性気道炎症を制御することが明らかとなり、新たな治療標的となりうる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)： We found that IkBNS induces Muc5ac, a representative mucin in asthmatic airways, and causes airway hyper-responsiveness. IkBNS is involved in the expression of Muc5ac independently of the Spdef pathway, a master regulator of goblet cell metaplasia. IkBNS directly binds to the distal promoter of MUC5AC and enhances its activity together with NF- κ B.

We also showed that IL-22 induces Reg3 production in lung epithelial cells in a STAT3-dependent manner. Reg3 functions on the lung epithelial cells and inhibits TSLP and IL-33 production, which leads to the suppression on allergic airway inflammation.

研究分野：分子細胞呼吸器学

キーワード：IkBNS Muc5ac 杯細胞 house dust mite

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息治療は、気道炎症を抑制する吸入ステロイド薬を中心に大きく進歩した。しかし5-10%の患者は既存治療に抵抗性であり、新たな治療標的を見出すことが重要な課題である。既存治療に抵抗性の喘息患者では、気道リモデリングが生じ、杯細胞による粘液過形成による気流制限がみられることが多い。本研究者は、これまでもアレルギー性気道炎症における気道上皮細胞の役割に関して多くの知見を報告してきた。しかし、気道上皮細胞の杯細胞分化および気道過敏性亢進の分子機構は依然として不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では気道上皮細胞の杯細胞分化および気道過敏性亢進において、I κ BNSをはじめとしたNF κ B経路の役割とその制御機構を明らかにし、難治性喘息の新たな治療標的を見出すことを主目的とした。

また上記研究を通じて、気道上皮細胞とクロストークを行う樹状細胞、Th2細胞、type 2 innate lymphoid cells(ILC2細胞)がアレルギー性気道炎症の病態を形成する機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

喘息の主要アレルゲンであるチリダニ抗原(house dust mite[HDM])を経気道投与することで生じるHDM誘導性喘息モデルを用いて、BALF中の細胞数やサイトカイン、アセチルコリン負荷による気道過敏性、PAS染色による杯細胞の評価を行った。

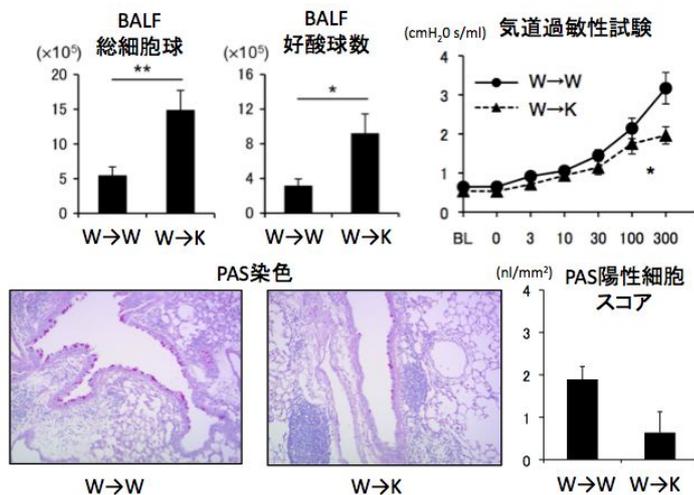
骨髄キメラマウスは、I κ BNS欠損マウスの骨髄細胞を野生型マウスへ移植すること(K W)で血球細胞のI κ BNSを欠損させたマウス、野生型マウスの骨髄細胞をI κ BNS欠損マウスへ移植すること(W K)で非血球系のI κ BNSを欠損させたマウスを作成し、同様に作成した(W W)(K K)のマウスをコントロールとして用いた。

Air-liquid interface (ALI) culture では、マウスの気道上皮細胞(murine tracheal epithelial cell:mTEC)をマウスから採取して培養することで検討を行った。

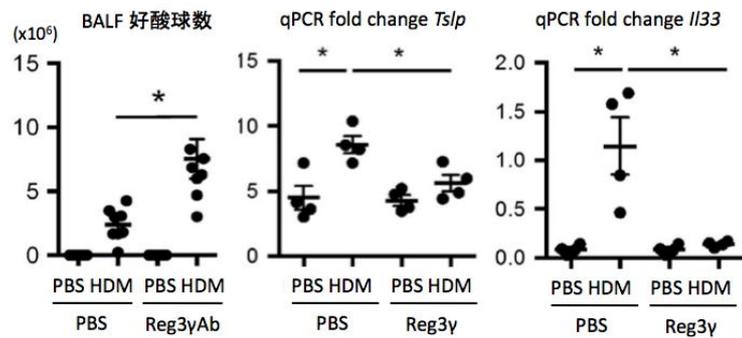
4. 研究成果

(1) NF- κ Bの制御を司るatypical I κ B蛋白のひとつであるI κ BNSを欠損させたマウスではアレルギー性気道炎症が悪化しているにも関わらず、興味深いことに気道過敏性は亢進しないことが示された。そこで血球細胞と非血球細胞のそれぞれにおけるI κ BNSの役割について骨髄キメラマウスを作成し解析した所、血球細胞のI κ BNSを欠損させたマウス(K W)ではアレルギー性気道炎症と気道過敏性ともに増悪したのに対して、非血球系のI κ BNSを欠損させたマウス(W K)

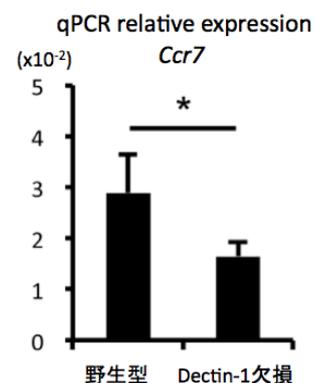
では、アレルギー性気道炎症が悪化した一方で、気道過敏性の減弱とPAS染色陽性の杯細胞が減少していることが明らかとなった。ALI cultureで培養したI κ BNS欠損気道上皮細胞は杯細胞形成のmaster regulatorとされるSpdef非依存的に代表的なムチンであるMuc5acの発現が低下を認めた。さらにI κ BNSがMUC5ACのプロモーター領域に結合することを明らかにした。



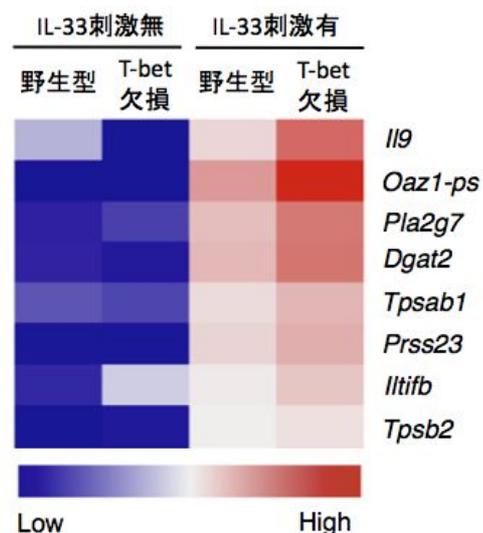
(2) IL-22 欠損マウスに HDM 誘発性喘息の解析を行い、アレルギー性気道炎症が悪化することを示した。1.気道上細胞から産生される Reg3 の産生は IL-22 刺激により STAT3 依存的であること、2.気道上皮細胞から産生される Reg3 はアレルギー性気道炎症を抑制すること、3.その機序として Reg3 は、thymic stromal lymphopoietin (TSLP)と IL-33 の発現を抑制し、さらに type 2 innate lymphoid cells の浸潤を抑制することを明らかにした。



(3) C-type lectin receptor である Dectin-1 は、真菌の β -glucan に加えてチリダニ成分を認識することが知られている。Dectin-1 欠損マウスを用いた HDM 誘発性喘息の解析を行い、Dectin-1 欠損マウスにおいてアレルギー性気道炎症が野生型マウスに比較して減弱していることを示した。Dectin-1 を発現した CD11b⁺樹状細胞は HDM の認識に関わり、さらに CCR7 を発現することで流入領域リンパ節への遊走に重要な働きをもつことを明らかにした。



(4) IFN- γ 刺激により肺の ILC2 細胞において T-bet が誘導されることを示した。マウスに IL-33 経鼻投与するモデルにおいて、野生型に比べて T-bet 欠損マウスでは肺の ILC2 細胞と好酸球炎症が増強すること、さらに T 細胞 B 細胞の無い Rag2 欠損 T-bet 欠損マウスでも同様の結果が得られることを示した。野生型と T-bet 欠損マウスから ILC2 細胞を分離し、IL-2, IL-7 に加えて IL-33 刺激有無で 6 日間培養し、RNA-sequence によりトランスクリプトーム解析を行った結果、T-bet が欠損することで、IL-33 刺激により IL-9 の発現が増強することが明らかとなった。また IL-9 を中和することで IL-33 誘導性の肺 ILC2 集積が減弱することが示された。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件, 全て査読あり)

1. Tanaka S, Suto A, Iwamoto T, Kageyama T, Tamachi T, Takatori H, Suzuki K, Hirose K, Ohara O, Lefebvre V, Nakajima H. Sox12 promotes T reg differentiation in the periphery during colitis. *J Exp Med*. 2018 Oct 1;215(10):2509-2519. doi: 10.1084/jem.20172082.

2. Makita S, Takatori H, Tamachi T, Suto A, Suzuki K, Nakajima H. Analyses of dermal innate lymphoid cells in mice lacking T-bet and STAT6.

Allergol Int. 2018 Sep; 67S:S51-S53. doi:10.1016/j.alit.2018.05.004

3. Ito T, Hirose K, Saku A, Kono K, Takatori H, Tamachi T, Goto Y, Renauld JC, Kiyono H, Nakajima H.

IL-22 induces Reg3 and inhibits allergic inflammation in house dust mite-induced asthma models.

J Exp Med. 2017 Oct 2;214(10):3037-3050. doi: 10.1084/jem.20162108.

4. Hosokawa J, Suzuki K, Meguro K, Tanaka S, Maezawa Y, Suto A, Fujimura L, Sakamoto A, Clevers H, Ohara O, Nakajima H.

I BNS enhances follicular helper T-cell differentiation and function downstream of ASC12.

J Allergy Clin Immunol. 2017 Jul;140(1):288-291.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2016.10.047.

5. Yokota M, Tamachi T, Yokoyama Y, Maezawa Y, Takatori H, Suto A, Suzuki K, Hirose K, Takeda K, Nakajima H.

IkBNS induces Muc5ac expression in epithelial cells and causes airway hyper-responsiveness in murine asthma models.

Allergy. 2017 Jul;72(7):1043-1053. doi: 10.1111/all.13079.

6. Matsuki A, Takatori H, Makita S, Yokota M, Tamachi T, Suto A, Suzuki K, Hirose K, Nakajima H.

T-bet inhibits innate lymphoid cell-mediated eosinophilic airway inflammation by suppressing IL-9 production.

J Allergy Clin Immunol. 2017 Apr;139(4):1355-1367. DOI:10.1016/j.jaci.2016.08.022

7. Ito T, Hirose K, Norimoto A, Tamachi T, Yokota M, Saku A, Takatori H, Saijo S, Iwakura Y, Nakajima H.

Dectin-1 Plays an Important Role in House Dust Mite-Induced Allergic Airway Inflammation through the Activation of CD11b+ Dendritic Cells.

J Immunol. 2017 Jan 1;198(1):61-70. DOI:10.4049/jimmunol.1502393

〔学会発表〕(計2件)

1. Tomohiro Tamachi, A20 (Tnfrsf25) expressed in T cells suppresses Th2 cell-mediated allergic airway inflammation in mice. 第46回日本免疫学会学術集会、2017年

2. 玉地智宏、気道上皮細胞に発現する I kBNS のアレルギー性気道炎症における役割、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：廣瀬 晃一

ローマ字氏名：HIROSE, Koichi

所属研究機関名：千葉大学

部局名：大学院医学研究院

職名：特任教授

研究者番号(8桁)：90400887

研究分担者氏名：鈴木 浩太郎
ローマ字氏名：SUZUKI, Kotaro
所属研究機関名：千葉大学
部局名：大学院医学研究院
職名：准教授
研究者番号（8桁）：90554634

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。