

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390145

研究課題名（和文） 好塩基球による Th2 誘導機構とアレルギー慢性化の解析

研究課題名（英文） Study on Induction of Th2 response and allergic inflammation by basophils

研究代表者

中西 憲司 (NAKANISHI KENJI)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60172350

研究成果の概要（和文）：

好塩基球は末梢白血球中 1%以下存在する少数派細胞で、FcεR1を構成的に発現し、アレルゲン-IgE複合体で活性化されると、直ちにヒスタミン、脂質メディエーター、IL-4、IL-13などを産生して、即時型過敏症を惹起する。私達は本細胞がIL-18とIL-33受容体を発現し、これらのサイトカインで刺激されるとIL-4、IL-13などを産生することを明らかにした。また、好塩基球がMHC class IIとCD80/86を発現し、抗原蛋白を取り込み細胞内でプロセス後にMHC class IIに抗原ペプチドを結合させ、同時にIL-4を産生することで、ナイーブTh細胞をTh2細胞に分化誘導することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Basophils, accounting for less than 1% of total circulating granulocytes, constitutively express FcεR1, and upon crosslinking of FcεR1-bound IgE with multivalent antigens, immediately release various kinds of effector molecules such as histamine and lipid mediators, and Th2-associated cytokines such as IL-4 and IL-13, causing immediate type hypersensitivity. Furthermore, basophils express IL-18R and IL-33R and very strongly produce IL-4 and IL-13 in response to IL-18 and/or IL-33. We have demonstrated that basophils express MHC class II and CD80/86, have the potential to take-up and process protein antigen (Ag), particularly Ag-IgE complexes, and to present peptide with MHC class II and produce IL-4, revealing that basophils are APC, which selectively induce Th2 cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：医歯薬学・免疫学

キーワード：好塩基球、Th2細胞、抗原提示、アレルギー性炎症、アレルゲン、IgE複合体

1. 研究開始当初の背景

好塩基球は生体内での数が少なく、また、機能解析に適した実験動物がないため、その生理機能の解明が遅れていた。

2. 研究の目的

これ迄の自身の研究成果を踏まえ、肥満細胞の様な単なる効果細胞として存在するのではなく、Th2細胞の誘導、維持、増強などの過程に関わる細胞ではないか推測し、この様な機能を有することを証明することで好塩基球のセントラルロールを解明するとともに、好塩基球を制御することでアレルギー性炎症を制御出来るものと考えて研究を開始した。

3. 研究の方法

好塩基球のTh2細胞誘導能：骨髄由来の好塩基球上のMHC class IIとCD80/86の発現をFACSで解析する。次に、好塩基球がAPC機能を有することを証明するため、OVA特異的TcRを発現するD011.10マウスのT細胞、OVA、そして抗原提示細胞（DCあるいは好塩基球）を共培養して、外部からIL-4を添加することなしでも、Th2細胞が誘導されるか検討した。

In vivoにおけるTh2細胞の誘導：
DNP-OVA/抗DNP-IgE抗体複合体を正常マウス、あるいは好塩基球を除去したマウスに投与し、OVA特異的Th2細胞が誘導されるか、その誘導が好塩基球異存的であるかを検討した。

4. 研究成果

好塩基球とTh2応答：
骨髄由来の好塩基球、あるいは脾臓由来の好塩基球はMHC class IIとCD80/86を発現している。そして、好塩基球は抗原であるOVAを取り込み、これをペプチド断片化した後、MHC class IIに結合してT細胞にこれを提示する。同時にIL-4を産生しており、IL-4の存在下で抗原刺激を受けたT細胞はTh2細胞に分化する。さらに、抗原単独でなく、抗原／抗原特異的IgE複合体を添加された好塩基球は、これをFcεRIを介して効率よく取り込み、また、大量のIL-4を産生するようになるので、この様な好塩基球はより強力にOVA特異的T細胞に抗原提示とIL-4刺激を提供するため、より強力なTh2細胞が誘導されるようになる。即ち、in vitroの研究から好塩基球は強力なTh2を選択的に誘導するAPCであることが明らかとなった。次に、抗原/IgE複合体でパルスされた肥満細胞、好塩基球、樹状細胞を正常なマウスに投与したところ、好塩基球を投与した場合にのみ、OVA特異的Th2細胞が誘導された。

また、抗FcεRI抗体処置マウスの様な好塩基球を欠損したマウスに、IgE複合体を投与したところ、OVA特異的Th2細胞の誘導が無処置の野生型マウスに比して、著明に抑制されていた。以上結果から、好塩基球がIgE複合体を、たとえ微量であっても効率よく取り込み、これを抗原提示してTh2細胞の誘導、維持、増強に関わることが明らかとなった。

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31件)

- (1) Nakanishi K. Basophils as APC in Th2 response in allergic inflammation and parasite infection. *Curr Opin Immunol* 2010;22:814-20. 査読有
- (2) Nakanishi K. Basophils are potent antigen-presenting cells that selectively induce Th2 cells. *Eur J Immunol*. 2010 ;40:1836-42. 査読有
- (3) Tsutsui H, Imamura M, Fujimoto J, Nakanishi K. The TLR4/TRIF-Mediated Activation of NLRP3 Inflammasome Underlies Endotoxin-Induced Liver Injury in Mice. *Gastroenterol Res Pract* 2010:641865.
- (4) Omoto Y, Yamanaka K, Tokime K, Kitano S, Kakeda M, Akeda T, Kurokawa I, Gabazza EC, Tsutsui H, Katayama N, Yamanishi K, Nakanishi K, Mizutani H. Granzyme B is a novel interleukin-18 converting enzyme. *J Dermatol Sci* 2010;59:129-35.
- (5) Satoh T, Takeuchi O, Vandenbon A, Yasuda K, Tanaka Y, Kumagai Y, Miyake T, Matsushita K, Okazaki T, Saitoh T, Honma K, Matsuyama T, Yui K, Tsujimura T, Standley DM, Nakanishi K, Nakai K, Akira S. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection. *Nat Immunol* 2010;11:936-44. 査読有
- (6) Kuroda-Morimoto M, Tanaka H, Hayashi N, Nakahira M, Imai Y, Imamura M, Yasuda K, Yumikura-Futatsugi S, Matsui K, Nakashima T, Sugimura K,

- Tsutsui H, Sano H, Nakanishi K. Contribution of IL-18 to eosinophilic airway inflammation induced by immunization and challenge with *Staphylococcus aureus* proteins. *Int Immunol* 2010;22: 561-70. 査読有
- (7) Matsuba-Kitamura S, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Taki Y, Muto T, Ikeda T, Mimura O, Nakanishi K. Contribution of IL-33 to induction and augmentation of experimental allergic conjunctivitis. *Int Immunol* 2010;22:479-89. 査読有
- (8) Nakanishi K, Tsutsui H, Yoshimoto T. Importance of IL-18-Induced Super Th1 Cells for the Development of Allergic Inflammation. *Allergol Int* 2010;59:137-41. 査読有
- (9) Kawa K, Tsutsui H, Uchiyama R, Kato J, Matsui K, Iwakura Y, Matsumoto T, Nakanishi K. IFN- γ is a master regulator of endotoxin shock syndrome in mice primed with heat-killed *Propionibacterium acnes*. *Int Immunol* 2010;22:157-66. 査読有
- (10) Harada M, Obara K, Hirota T, Yoshimoto T, Hitomi Y, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Fukutomi Y, Nakanishi K, Nakamura Y, Tamari M. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:1048-55. 査読有
- (11) Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, Nakanishi K. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4⁺ T cells. *Nat Immunol* 2009;10:706-12. 査読有
- (12) Imamura M, Tsutsui H, Yasuda K, Uchiyama R, Yumikura-Futatsugi S, Mitani K, Hayashi S, Akira S, Taniguchi S, Van Rooijen N, Tschopp J, Yamamoto T, Fujimoto J, Nakanishi K. Contribution of TIR domain-containing adapter inducing IFN-beta-mediated IL-18 release to LPS-induced liver injury in mice. *J Hepatol* 2009;51:333-41. 査読有
- (13) Sakishita, M., Yoshimoto, T., Hirota, T., Harada, M., Okubo, K., Osawa, Y., Fujieda, S., Nakamura, Y., Yasuda, K., Nakanishi, K. and Tamari, M. (2008) Association of serum IL-33 level and the IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin. Exp. Allergy*, 38, 1875-1881. 査読有
- (14) Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-Yumikura, S., Morimoto, M., Hayashi, N., Hoshino, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2008) Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *Int. Immunol.*, 20, 791-800. 査読有
- (15) Kosaka, H., Yoshimoto, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. (2008) Interferon- γ is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat. Med.*, 14, 437-441. 査読有
- (16) Andoh, T., Kishi, H., Motoki, K., Nakanishi, K., Kuraishi, Y. and Muraguchi, A. (2008) Protective effect of IL-18 on kainate- and IL-1 β -induced cerebellar ataxia in mice. *J. Immunol.*, 180, 2322-2328. 査読有
- (17) Seki, E., Kondo, Y., Iimuro, Y., Naka, T., Son, G., Kishimoto, T., Fujimoto, J., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. (2008) Demonstration of cooperative contribution of MET- and EGFR-mediated STAT3 phosphorylation to liver regeneration by exogenous suppressor of cytokine signaling. *J. Hepatol.*, 48, 237-245.

[学会発表] (計 31 件)

- (1) Nakanishi K. Innate and acquired immunity in expulsion of intestinal nematode. 14th International Congress of Immunology 2010. 8. 27 Kobe
- (2) Nakanishi K. Basophils are potent

antigen-presenting cells which selectively induce Th2 cells. Adaptive and innate immune response to neglected tropical diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program 2010.1.9, San Diego

- (3) Nakanishi K. NKT IFN- γ production in response to cancel cauterization induces intestinal adhesion formation by reciprocal regulation of plasminogen activator inhibitor type 1(PA I) and tissue-type plasminogen activator (tPA). The 5th International Symposium on CD1/NKT Cells 2009.3.26 Kamakura
- (4) 中西憲司 (2008) 術後の腸管癒着も免疫学的機序を基盤に形成される。(シンポジウム)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第5回(最終)公開シンポジウム, 12.15, 東京。(要旨集, 13-16, 2008.)
- (5) Nakanishi, K. and Yoshimoto, T. (2008) Basophils induce and augment Th2 response. (シンポジウム) 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都。(日本免疫学会総会・学術集会記録, 38, 2, 2008.)

[産業財産権]

○出願状況(計2件)

名称: Th2 細胞誘導用組成物および Th2 型疾患の治療組成物, ならびにこれらの利用.

発明者: 善本知広, 中西憲司.

権利者:

種類: 特許

番号: PCT/JP2009/005625

出願日: 2009年10月26日

名称: 実験動物の腸管癒着を形成する方法、腸管癒着実験動物の製造方法、腸管癒着抑制剤のスクリーニング方法及び腸管癒着抑制剤

発明者: 善本知広、中西憲司、藤元治朗

権利者: 科学技術振興機構

種類: 特許

番号: 特願 2007-033904

出願年月日: 2007年2月14日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中西 憲司 (NAKANISHI KENJI)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号: 60172350

(2) 研究分担者

善本 知広 (YOSHIMOTO TOMOHIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号: 60241171

中平 雅清 (NAKAHIRA MASAKIYO)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号: 6045758