

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17437

研究課題名（和文）好酸球性多発血管炎性肉芽腫症における2型自然リンパ球の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of ILC2 in Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis

研究代表者

町山 智章 (Machiyama, Tomoaki)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：00868268

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：EGPA患者の好酸球では、BA患者や健常者と比較して好酸球の活性化マーカーであるCD11b、CD35、CD69の発現の著明な増加が認められることを明らかにした。同様に、好酸球細胞表面の接着分子であるPSGL-1、L2、41の発現も増加していた。また、*in vitro*での解析では、IL-33刺激により上述の活性化マーカーや接着分子の発現亢進が認められた。いっぽう、TLRや死細胞センサーはタンパク質レベルでは有意な発現の増加は認めなかった。以上より、本研究からEGPAでは好酸球上の接着因子の発現亢進を伴う活性化が血管炎に寄与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

EGPAの治療には副腎皮質ステロイドや免疫抑制剤が用いられるが、しばしば再燃を繰り返し、重症例や難治例では致命的な転帰を辿る。気管支喘息の治療に用いられていた抗IL-5抗体製剤であるメポリズマブが2018年より難治性EGPAの適応追加が承認され、治療選択の幅が広がった。しかしながら気管支喘息に対する投与量の3倍量を要するほか、投与中に再燃するケースも多く、最適化された治療とは言い難い。血管炎の分子的機序を明らかにすることで、特異的・効果的な治療標的の同定につながる事が期待される。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated increased expression of the activation markers CD11b, CD35 and CD69 in eosinophils from EGPA patients. Similarly, adhesive markers including PSGL-1, L2 and 41 were remarkably upregulated on the surface of eosinophils from EGPA patients. In addition, stimulation with IL-33 enhanced the expression of these molecules *in vitro*. These results suggest that upregulated expression of adhesive molecules on eosinophils contribute to vasculitis in the pathogenesis of EGPA.

研究分野：免疫学

キーワード：EGPA ILC2 好酸球

1 . 研究開始当初の背景

好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(以下 EGPA)は喘息やアレルギー性鼻炎を前駆症状とし、高度の好酸球増加と多臓器に障害を引き起こす全身性の壊死性血管炎である。全身に多彩な症状を呈し(Moosig F et al. Ann Rheum Dis. 2013 Jun;72(6):1011-7)、約半数の症例で抗好中球細胞質抗体(以下 ANCA)が検出されることから ANCA 関連血管炎に分類されるが、発症の原因や機序は未だ明らかになっていない。治療には副腎皮質ステロイドホルモンや免疫抑制剤が用いられるが、しばしば再燃を繰り返し、重症例や難治例では致命的な転帰を辿る。気管支喘息の治療に用いられていた抗 IL-5 抗体製剤であるメボリズマブが 2018 年より難治性 EGPA の適応追加が承認され、治療選択の幅が広がった。しかしながら気管性喘息に対する投与量の 3 倍量を要するほか、投与中に再燃するケースも多く、最適化された治療とは言い難いため、病態の解明および特異的・効果的な治療標的の同定が望まれる。

2 . 研究の目的

現在 EGPA の治療では抗 IL-5 抗体のメボリズマブが使用されるが、その上流で IL-5 の産生源である ILC2 は、より効果的な治療標的として有望である。また ILC2 は、細胞表面上に発現した多様な受容体を介して、cell-to-cell contact によってリガンド発現細胞の機能を制御することが近年明らかになっている(Halim TYF et al. Immunity. 2018 Jun 19;48(6):1195-1207.e6)。

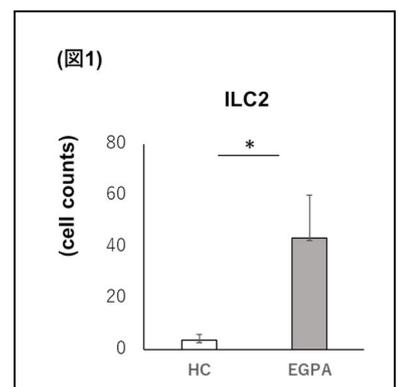
EGPA では好酸球や好中球・抗体(ANCA)産生細胞など複数の免疫細胞が病態に参与しており、ILC2 が 2 型サイトカインの産生のみでなく、受容体-リガンドを介してこれらの細胞の機能を調停している可能性も考えられる。そこで本研究では、これらを作業仮説として、EGPA の病態において ILC2 やその活性化因子である GITR がいかに関わるか、その分子機構の一端を明らかとすることを旨とする。

3 . 研究の方法

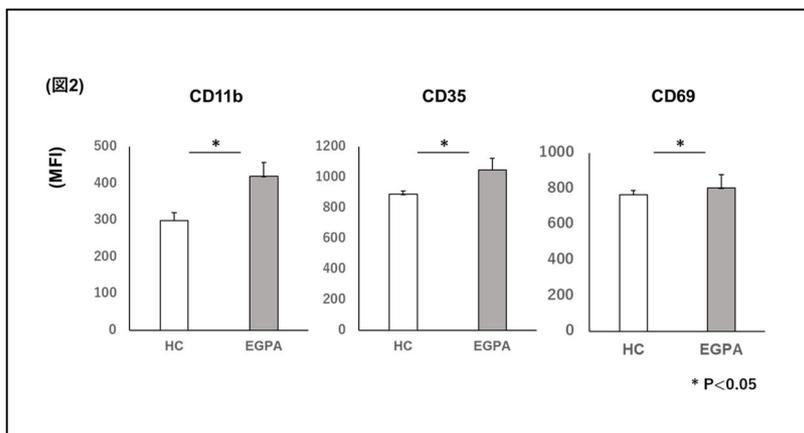
健常者(HC)と気管支喘息(BA)患者、好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(EGPA)患者の血液検体から末梢血単核球(PBMCs)をそれぞれ分離し、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて各種免疫細胞(ILC2, T 細胞, B 細胞, 好酸球, 好中球, 樹状細胞)の発現頻度を解析した。なお先行文献に倣い、ヒト ILC2s は Lineage- CD45+ IL-7Ra+ CRTH2+ と定義した。また、両群の好酸球における活性化マーカーや接着因子の発現強度を比較した。

4 . 研究成果

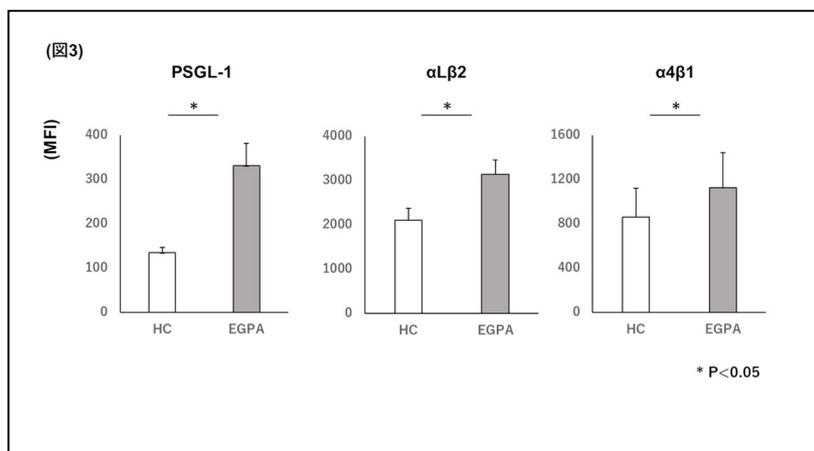
Tsurikisawa らは、気管支喘息患者と比較して EGPA を発症した患者の末梢血液中では ILC2 の著しい増加が認められることを報告しており(Tsurikisawa N. et al, Clin Exp Allergy. 2018 Oct;48(10):1305-1316)、既報と同様に EGPA 患者での末梢血中では健常者と比較して ILC2 の増加が認められた(図 1)。



しかしながらいずれの群でも絶対数は非常に少なく、ILC2での表面抗原解析やソーティング後のRNA抽出は困難と判断し、好酸球に焦点を当てた解析を行った。好酸球の活性化マーカーとしてCD11b, CD35, CD69などの分子が代表的であり、(M W Johansson, Clin Exp Allergy. 2014 Apr;44(4):482-98)、これらの発現強度を評価した。EGPA患者の好酸球では、健常者と比較してCD11b, CD35, CD69, の発現の増加が認められた(図2)。



また、他の ANCA 関連血管炎血管炎である顕微鏡的多発血管炎や多発血管炎性肉芽腫症では、好中球上の接着分子の発現亢進が報告されており、EGPAでの好酸球における接着分子の発現を評価した。EGPA患者の好酸球では接着分子であるPSGL-1, L2, 4, 1の発現も増加していた(図3)。



次に、EGPA患者のIL-33やTSLP, IL-25などのAlarminと呼ばれる血清サイトカイン濃度が有意に増加しており、これらのサイトカイン刺激による好酸球の機能や活性の変化をin vitroで評価した。ANCA関連血管炎の病理像ではしばしば小血管の壊死性血管炎を呈することから、好酸球上に内因性リガンドや死細胞を認識する分子の発現が誘導されているのではないかという仮説を立てた。その仮説の基で、健常者の末梢血から分離した好酸球をin vitroにてIL-33で刺激を行い、mRNA発現およびフローサイトメトリーによる表面抗原の発現を評価した。IL-33刺激に伴い一部のTLR発現増加は認められたが、Mincleなどの死細胞センサーはタンパク質レベルでは有意な発現の増加は認めなかった(図なし)。

以上より、本研究からEGPAでは好酸球は接着因子の発現亢進を伴う活性化が血管炎に寄与していることが示唆された。詳細な病態の解明に向けて、更なる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------