

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591113

研究課題名(和文) 気管支喘息およびChurg - Strauss症候群におけるTh9細胞の役割の解明

研究課題名(英文) Roles of Th9 cells in the development of allergic granulomatous angitis and asthma

研究代表者

廣瀬 晃一 (HIROSE, KOICHI)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90400887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性肉芽腫性血管炎(AGA)は気管支喘息に、好酸球性肉芽腫性血管炎を合併する難治性病態である。近年、AGA患者の血清中でTh9細胞を誘導することが示されたIL-25発現が上昇していることが示されたが、IL-25のAGA発症における働きは不明である。我々は抗原により感作されたマウスに抗原を頻回吸入することにより、IL-25依存的に肺動脈周囲の炎症細胞浸潤が生じることを示した。さらに肺特異的IL-25過剰発現マウスの観察により持続的なIL-25の発現のみで肺動脈周囲の炎症、血管リモデリングが発症することを示した。以上の結果から肺動脈周囲炎の発症にIL-25が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent studies have shown that prolonged Th2-type immune inflammation in the lung induces pulmonary arterial remodeling. However, roles of IL-25, which promotes Th2-type inflammation, in the development of pulmonary arterial remodeling remain unknown. In this study, we evaluated the role of IL-25 in the development of pulmonary arterial remodeling. Repeated OVA inhalation induced pulmonary arterial wall thickening and the expression of IL-25 and RELM α mRNA in the lung in OVA-sensitized mice. Injection of neutralizing anti-IL-25 antibody inhibited OVA-induced pulmonary arterial wall thickening and RELM α expression in the lung. CC10 IL-25 mice but not CC10 IL-25 NKT $^{-/-}$ mice spontaneously developed pulmonary arterial wall thickening and RELM α expression in the lung at 6 months of age. These results show that prolonged expression of IL-25 in the lung induces pulmonary arterial wall thickening by NKT cell-dependent mechanisms.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：IL-25 Th9細胞 肺動脈周囲炎 血管リモデリング

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は気道を場とした慢性アレルギー性炎症であり、その病態の中心には抗原特異的 Th2 細胞が存在する。その一方、喘息患者の臨床フェノタイプ解析により、多彩な病態が存在することが示されるとともに、免疫学的にも様々な機構が関与することが示唆された。

IL-9 産生性 CD4 陽性 T 細胞 (Th9 細胞) は近年見出された新規 T 細胞サブセットであり、IL-25 によりその分化が促進される。IL-25 は気道上皮由来サイトカインとして喘息の病態に関与することが示されているが、IL-25/Th9 細胞経路の気管支喘息における働きに関しては依然として不明である。

さらに近年では難治性喘息の一病態であるアレルギー性肉芽腫性血管炎の発症に IL-25 が関与することが示された。このことは IL-25/Th9 細胞経路が喘息の発症のみならず難治化にも寄与することを示唆している。

2. 研究の目的

本研究ではアレルギー性気道炎症、ならびにアレルギー性肉芽腫性血管炎を始めとした各種血管炎やその病理所見の発症における IL-25/Th9 細胞経路の働きを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

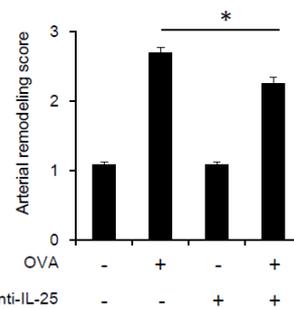
- 1) 抗原特異的アレルギー性気道炎症モデル C57BL/6 マウスを卵白アルブミン (OVA) /水酸化アルミニウム (Alum) を用いて感作し OVA を吸入投与し抗原誘発性アレルギー性気道炎症を惹起した。さらに IL-9 の発現、ならびに IL-25 の働きを解析した。
- 2) 肺特異的 IL-25 産生マウスの作成 肺特異的プロモーター/エンハンサーである CC10 promoter を用いて肺特異的に IL-25 を過剰発現するトランスジェニックマウス (CC10-IL-25 マウス) を作成した。
- 3) NKT 細胞の働きを検討するため CC10-IL-25/NKT 欠損マウス (CC10-IL-25/NKT^{-/-}マウス) を作成しアレルギー性気道炎症、肺動脈血管炎の発症における働きを検討した。

4. 研究成果

IL-25 は抗原誘発性肺動脈リモデリングに関与する

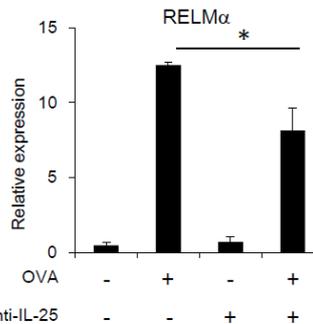
近年の報告では、肺高血圧症の病理所見である肺動脈リモデリングの発症にも Th2 型免疫応答が寄与していることが見出された。そこで我々は、OVA で感作したマウスに OVA を頻回吸入させることにより肺動脈リモデリングの発症を検討した。既存の報告にみられるように OVA 吸入依存的に肺動脈周囲への炎症細胞浸潤、さらには肺動脈リモデリングの特徴的病理所見である平滑筋肥厚が発症することが見出された。また定量的 RT-PCR 法により OVA 吸入により肺において IL-25 発現が誘導されることが明らかとなった。このため肺動

脈リモデリングにおける IL-25 の働きを検討する目的で、OVA 吸入時に IL-25 中和抗体を投与しその働きを抑制した。その結果、IL-25



中和抗体を投与されたマウスでは肺動脈周囲の平滑筋肥厚が抑制されることが明らかとなった。

平滑筋増生に関与する因子である RELM α は Th2 炎症による肺動脈周囲平滑筋肥厚にも関与することが示唆されているが、IL-25 中和抗



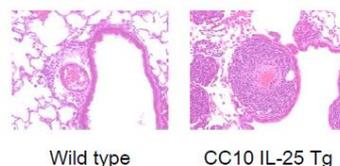
体投与群においては RELM α 発現も低下していることが明らかとなった。

この結果から IL-25 は抗原誘発性肺動脈リモデリング発症に関与していることが明らかとなった。

肺特異的 IL-25 過剰産生マウスでは肺動脈壁肥厚が自然発症する

次に我々は、肺動脈壁周囲の平滑筋肥厚発症における IL-25 の働きを検討する目的で、肺特異的に IL-25 を過剰発現する CC10-IL-25 マウスを作成した。8 週齢の CC10-IL-25 マウスの肺組織を検討したところ、コントロールマウスと比較しても組織学的変化は見られず炎症細胞浸潤も生じていなかった。しかし興味深いことに、6 か月齢の CC10-IL-25 マウスの肺組織を検討したところ、肺周囲への炎症細胞浸潤とともに肺動脈周囲の平滑筋肥厚が自然発症していることが明らかとなった。

この結果から肺動脈周囲の平滑筋肥厚には IL-25 産生単独で十分であることが示された。

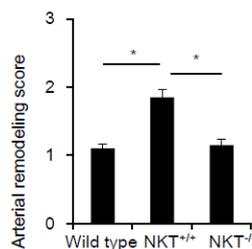


Wild type

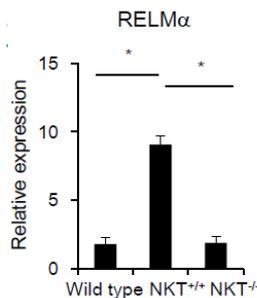
CC10 IL-25 Tg

IL-25 による肺動脈周囲平滑筋増生には NKT 細胞が必須である

IL-25 が直接作用する標的細胞に関しては依然として不明な点が多い。しかし、近年 NKT 細胞の一部のサブセットが IL-25 受容体を発現し、IL-25 の働きを介在することが示された。我々は IL-25 による肺動脈周囲の平滑筋増生における NKT 細胞の働きを検討するため、CC10-IL-25/NKT^{-/-}を作成し、肺動脈周囲の平滑筋増生の発症を検討した。興味深いことに CC10-IL-25/NKT^{+/+}マウスで自然発症する肺動脈周囲の炎症細胞浸潤、ならびに平滑筋肥厚は、CC10-IL-25/NKT^{-/-}マウスでは有意に減弱していることが明らかとなった。



さらに定量的 RT-PCR 法による肺 RELM α の比較でも、CC10-IL-25/NKT^{+/+}マウスでは RELM α 発現が上昇している一方、CC10-IL-25/NKT^{-/-}では野生型マウスと同レベルに減弱していることが明らかとなった。これらの結果から IL-25 による肺動脈周囲平滑筋増生には NKT 細胞が必須の役割を果たすことが明らかとなった。



考察

肺高血圧症は現在も根本的な治療方法が見出されていない予後不良の疾患である。その病理学的特徴として肺動脈周囲平滑筋増生がみられるが、近年の研究により Th2 型免疫応答がこの平滑筋増生に関与することが報告された。我々はこれまでに気道上皮由来サイトカインである IL-25 がアレルギー性気道炎症の増悪に関与することを見出している。したがって本研究では肺動脈平滑筋増生における IL-25 の働きを検討した。これまでの報告と一致して IL-25 は抗原誘発性アレルギー性気道炎症を増悪させるとともに、肺動脈平滑筋増生も増強することが明らかとなった。さらに興味深いことに CC10-IL-25 マウスでは肺動脈平滑筋肥厚が自然発症することから、肺動

脈リモデリングの発症には肺における IL-25 が必須であり、かつ十分であることが示された。また、CC10-IL-25/NKT^{-/-}マウスの解析から、この IL-25 の作用は NKT 細胞を介していることも明らかとなった。これらの結果から IL-25/NKT 細胞経路は肺高血圧症の治療標的となりえると考えられた。

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 13 件)

- ① Norimoto A, Hirose K, Iwata A, Tamachi T, Yokota M, Takahashi K, Saijo S, Iwakura Y, Nakajima H. Dectin-2 promotes house dust mite-induced Th2 and Th17 cell differentiation and allergic airway inflammation in mice. **Am J Respir Cell Mol Biol**. 査読有 2014, in press
- ② Iwamoto T, Ikeda K, Hosokawa J, Yamagata M, Tanaka S, Norimoto A, Sanayama Y, Nakagomi D, Takahashi K, Hirose K, Sugiyama T, Sueishi M, Nakajima H. Ultrasonographic assessment predicts relapse after discontinuation of biological agents in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission - high predictive values of total gray-scale and power Doppler scores which represent residual synovial inflammation before discontinuation. **Arthritis Care Res**. 査読有 2014, in press. doi: 10.1002/acr.22303.
- ③ Iwata A, Kawashima S, Kobayashi M, Kawashima H, Suto A, Hirose K, Nakayama T, Nakajima H. Th2-type inflammation instructs inflammatory dendritic cells to induce airway hyperreactivity. **Int Immunol**. 査読有 26: 103-14, 2014 doi: 10.1093/intimm/dxt047.
- ④ Iwata A, Ikeda K, Hirose K, Takatori H, Takahashi K, Suzuki Y, Tanaka S, Suto A, Nakajima H. Pre-dinner administration increases the efficacy of proton pump inhibitors on refractory GERD symptoms in connective tissue disease patients. **Mod Rheumatol**. 査読有 23:357-64, 2013. doi: 10.1007/s10165-012-0662-5.
- ⑤ Kawashima S, Hirose K, Takahashi K, Tamachi T, Ikeda K, Tokoyoda K, Nakayama T, Nakajima H. Interleukin-25 induces pulmonary arterial remodeling via natural killer T cell-dependent mechanisms. **Int Arch**

- Allergy Immunol.** 査読有 161(S2):118-24, 2013.
doi: 10.1159/000350379.
- ⑥ Hirose K, Takahashi K, Nakajima H. Role of IL-22 in allergic airway inflammation. **J Allergy.** 査読有 2013:260518, 2013.
doi: 10.1155/2013/260518.
- ⑦ Nakajima H, Hirose K. Roles of IL-17 family cytokines in allergic airway inflammation. **Arerugi** 査読有 62: 822-826, 2013
<http://jja.jsaweb.jp/2013/062070822e.html>
- ⑧ Yamagata M, Hirose K, Ikeda K, Nakajima H. Clinical characteristics of Nocardia infection in patients with rheumatic diseases. **Clin Dev Immunol.** 査読有 2013:818654, 2013.
doi: 10.1155/2013/818654.
- ⑨ Kawashima H, Takatori H, Suzuki K, Iwata A, Yokota M, Suto A, Minamino T, Hirose K, Nakajima H. Tumor suppressor p53 inhibits systemic autoimmune diseases by inducing regulatory T cells. **J Immunol.** 査読有 191:3614-23, 2013.
doi: 10.4049/jimmunol.1300509.
- ⑩ Saito Y, Kagami S, Kawashima S, Takahashi K, Ikeda K, Hirose K, Oshitari T, Yamamoto S, Okamoto Y, Nakajima H. Roles of CRTH2+ CD4+ T Cells in Immunoglobulin G4-Related Lacrimal Gland Enlargement. **Int Arch Allergy Immunol.** 査読有 158:42-46, 2012.
doi: 10.1159/000337761.
- ⑪ Kawashima S, Hirose K, Iwata A, Takahashi K, Ohkubo A, Tamachi T, Ikeda K, Kagami S, Nakajima H. β -glucan curdlan induces IL-10-producing CD4⁺ T cells and inhibits allergic airway inflammation. **J Immunol.** 査読有 189:5713-21, 2012.
doi: 10.4049/jimmunol.1201521.
- ⑫ Oya Y, Watanabe N, Owada T, Oki M, Ikeda K, Suto A, Kagami S, Hirose K, Kishimoto T, Nakajima H. Lack of B and T lymphocyte attenuator exacerbates autoimmune disorders and induces Fas-independent liver injury in MRL-lpr/lpr mice. **Int Immunol.** 査読有 23:335-44, 2011.
doi: 10.1093/intimm/dxr017.
- ⑬ Takahashi K, Hirose K, Kawashima S, Niwa Y, Wakashin H, Iwata A, Tokoyoda K, Renauld JC, Iwamoto I, Nakayama T, Nakajima H. IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. **J Allergy Clin Immunol.** 査読有 128:1067-76, 2011.
doi: 10.1016/j.jaci.2011.06.018.
- [学会発表] (計 13 件)
- ① Takatori H, Suzuki K, Yokato M, Suto A, Hirose K, Nakajima H. Tumore suppressor p53 inhibits systemic autoimmune diseases by inducing regulatory T cells. 日本免疫学会総会・学術集会 2013年12月11日~13日 千葉
- ② 大久保綾子、廣瀬晃一、西城忍、岩倉洋一郎、中島裕史 チリダニ誘発性アレルギー性気道炎症発症における真菌認識機構 Dectin-2 の役割 第63回日本アレルギー学会秋季学術集会 2013年11月28日~30日 東京
- ③ 廣瀬晃一、川島沙紀、中島裕史 アレルギー性気道炎症における樹状細胞の新たな役割. 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013年5月11日~12日 横浜
- ④ 廣瀬晃一、豊留孝仁、亀井克彦、岩本逸夫、中島裕史 スエヒロタケ (Schizophyllum commune) 特異的 IgE 抗体測定 ELISA 法による喘息患者における感作率の検討 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013年5月11日~12日 横浜
- ⑤ 高取宏昌、細川淳一、山形美絵子、牧田莊平、池田啓、廣瀬晃一、石坂透、松宮護郎、中島裕史 FDG-PET/CT が病勢評価に有用であった炎症性大動脈瘤の1例 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013年5月11日~12日 横浜
- ⑥ 山形美絵子、眞山快枝、池田啓、廣瀬晃一、中島裕史 当院におけるチャグ・ストラウス症候群の臨床的検討 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013年5月11日~12日 横浜
- ⑦ Tamachi T, Takatori H, Kawashima H, Nakagomi D, Hirose K, Nakajima H. Spontaneous development of psoriasis-like skin diseases in T-bet/Stat6-double deficient mice 日本免疫学会総会・学術集会 2012年12月5日~7日 神戸
- ⑧ 川島沙紀、廣瀬晃一、玉地智宏、池田啓、鈴木浩太郎、中島裕史 IL-25 は NKT 細胞を介して肺動脈周囲の炎症と肺動脈平滑筋の増生を誘発する 第62回日本アレルギー学会秋季学術集会 2012年11月29日~12月1日 大阪
- ⑨ 川島沙紀、廣瀬晃一、岩田有史、高橋健太郎、加々美新一郎、中島裕史 curdlan は IL-10 産生性 T 細胞を誘導し、アレルギー性気道炎症を抑制する 第62回日本アレルギー学会秋季学術集会 2012年11月29日~12月1日 大阪
- ⑩ 山形美絵子、田中繁、中込大樹、岩田有史、

池田啓、須藤明、加々美新一郎、廣瀬晃一
中島裕史 膠原病治療中に生じたノカ
ルジア感染症の臨床的検討 第56回日本リ
ウマチ学会総会・学術集会 2012年4月
26日～28日 東京

- ⑪ 高橋健太郎、廣瀬晃一、川島沙紀、丹羽祐
輔、若新英史、小林芳久、常世田孝司、中
山俊憲、谷口正実、秋山一男 IL-25は気
道上皮細胞によるIL-25産生を抑制しア
レルギー性気道炎症を制御する 第61回
日本アレルギー学会秋季学術大会 2011
年11月10日～12日 東京
- ⑫ 加々美新一郎、細川淳一、山形美絵子、池
田啓、廣瀬晃一、中島裕史 IgG4関連涙
腺腫脹症例におけるPGD2-CRTH2経路の役
割の解析 第61回日本アレルギー学会秋
季学術大会 2011年11月10日～12日
東京
- ⑬ 池田啓、川島広稔、高橋健太郎、平松有希
子、横田雅也、岩田有史、柏熊大輔、若新
英史、高取宏昌、須藤明、加々美新一郎、
鈴木浩太郎、廣瀬晃一、渡辺紀彦、中島裕
史 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者
のQuality of Life調査 第55回日本リ
ウマチ学会総会・学術集会 2011年7月
17日～20日 神戸

〔図書〕(計 1 件)

Nakajima H, Tamachi T, Hirose K.
Interleukin-25. Cytokine Frontiers
(Regulation of immune responses in health
and disease) p247-266 (Ed Yoshimoto T),
Springer, 2013.

〔その他〕

ホームページ等
千葉大学大学院医学研究院
アレルギー・臨床免疫学
[http://www.m.chiba-
u.ac.jp/class/allergy/index.html](http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/allergy/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣瀬 晃一 (HIROSE KOICHI)
千葉大学・大学院医学研究院・准教授
研究者番号：90400887

(2) 研究分担者

高取 宏昌 (TAKATORI HIROAKI)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：30568225

(3) 連携研究者

中島 裕史 (NAKAJIMA HIROSHI)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：00322024

須藤 明 (SUTO AKIRA)
千葉大学・大学院医学研究院・特任准教授

研究者番号：50447306

池田 啓 (IKEDA KEI)
千葉大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10456014