

令和元年6月13日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16356

研究課題名(和文) IL-33受容体陽性細胞がアトピー性疾患に与える影響の研究

研究課題名(英文) IL-33R(+) cells and atopic dermatitis

研究代表者

永井 諒 (NAGAI, Makoto)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：30791545

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：IL-33は2型サイトカイン産生を促すアラミンで、IL-33を過剰に産生する遺伝子改変マウス(IL-33Tg)はアトピー性皮膚炎(AD)の症状を再現するモデルである。本研究では、遺伝子操作ならびに抗体で好塩基球だけを消去した場合、または2型自然リンパ球(ILC2)だけを欠損した場合においてIL-33Tgの皮膚炎が減弱することを証明し、IL-33の標的細胞を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトADでは好塩基球が皮膚で増加していることが近年報告された(Kim BS, J Immunol. 193(7):3717-25, 2014)が、ADの皮膚炎が好塩基球の活性化に依存するかどうか、実際にヒトで検討するのは難しい。そこで、我々の研究チームは、AD様皮膚炎を自然発症するIL-33Tgマウスを好塩基球のないマウスと交配あるいは抗体投与によって好塩基球を除去し、皮膚炎が減弱するという効果を観察したことで、ADの皮膚炎発症における好塩基球の役割が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：IL-33 is an alarmin that promotes type 2 cytokine production, and a genetically modified mouse (IL-33Tg) that overproduces IL-33 is a model that reproduces the symptoms of atopic dermatitis (AD). In this study, we demonstrated that dermatitis of IL-33Tg is attenuated when basophils are eliminated, or when type 2 innate lymphoid cells (ILC2) are deleted. Thus, we revealed the cells targeted by IL-33.

研究分野：アトピー性皮膚炎

キーワード：ILC2 basophil

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

1. 研究開始当初の背景

IL-33 は **IL-1** ファミリーに属する炎症性サイトカインで、上皮系細胞の核内に活性型として存在する。我々は、種々のアレルギーを引き起こす物質、例えばブタクサ花粉の刺激によって結膜上皮細胞や鼻粘膜上皮細胞が細胞外(鼻汁中)に **IL-33** を分泌すること(Haenuki Y, et al. *J Allergy Clin Immunol*, 2012)、ハプテンによる刺激で角化細胞が **IL-33** を細胞外に放出することを示してきた (Imai Y, et al. *J Dermatol Sci*, 2014)。即ち、**IL-33** は細胞障害性の刺激によって遊離する警報因子 “alarmin” である。

ヒトのアトピー性皮膚炎 (AD) の表皮 (ケラチノサイト) では **IL-33** が高発現しており、AD の皮膚では「警報因子が過剰」な状態と考えられる。そこで、我々の共同研究チームはヒトケラチン **14** をプロモーターとして **IL-33** を表皮で過剰産生する遺伝子改変マウス (**IL-33Tg**) を樹立した。このマウスでは **IL-33** 受容体を発現する 2 型自然リンパ球 (group 2 innate lymphoid cells; **ILC2**) が活性化し、**IL-5** や **IL-13** などの **Th2** サイトカイン産生の増加を伴って AD に酷似する皮膚炎が自然発症したため、AD の新しい発症機序として **IL-33** によって活性化された自然リンパ球が **Th2** サイトカインを産生するという仮説を表明した (Imai Y, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110:13921-6, 2013)。さらにヒト AD でも同様に **ILC2** が **IL-33** に反応して **IL-5** や **IL-13** などの **Th2** サイトカインを産生することが判明した (Salimi M, et al. *J Exp Med*, 210:2939-50, 2013)。

しかしその後、喘息においては **ILC2** の活性化には好塩基球の産生する **IL-4** が必須であること (Motomura Y, *Immunity*. 40(5):758-71, 2014) が報告されたが、AD などの皮膚炎の発症における好塩基球の関与は不明なままであり、皮膚炎における **ILC2** の活性化に好塩基球が産生する **IL-4** が必要なのかどうかは、分かっていなかった。

2. 研究の目的

ヒト AD では好塩基球や **ILC2** が皮膚で増加していることが近年報告された (Kim BS, *J Immunol*. 193(7):3717-25, 2014) が、AD の皮膚炎が好塩基球や **ILC2** の活性化に依存するかどうか証明することは、ヒトでの検討は難しい。そこで、AD 様皮膚炎を自然発症する **IL-33Tg** マウスを好塩基球のないマウスと交配あるいは抗体投与によって好塩基球を除去し、その効果を観察して、AD の皮膚炎発症における好塩基球や **ILC2** の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

IL-33Tg マウスにおいて好塩基球または **ILC2** を人為的に欠如させ、**IL-33** で誘発された AD 様皮膚炎の発症が好塩基球に依存する可能性について検討する。具体的には、好塩基球の欠損は Bas-TRECK 技術または MAR-1 抗体投与で実現する。**ILC2** の欠損に関しては、ROR アルファミュータントマウス (B6.C3(Cg)-*Rora*^{sg}/J) からの骨髄移植によって実現させる。各種細胞はフローサイトメータによってその表面マーカーを明らかにするが、**ILC2** は lineage markers (Lin) (B220, CD3, CD4, CD8, Gr-1, Fc RI, NK1.1, Siglec-F) ⁻ CD45⁺ Sca-1⁺ ST2⁺ で定義する。好塩基球は、Lin (B220, CD3, CD4, CD8, Gr-1, NK1.1, Siglec-F, Thy-1.2) ⁻ c-kit⁻ CD45⁺ Fc RI⁺ DX5⁺ で定義するが、その場合に使用する抗体は、マウス B220, CD3, CD4, CD8, CD45, CD49b (DX5), CD90.2 (Thy1.2), CD278 (ICOS), CD124 (IL-4R^α), Gr-1, IL-4 (11B11), IL-5 (TRFK5), NK1.1, Sca-1, anti-CD16/32 antibody (93), Brilliant Violet 421 streptavidin (以上 BioLegend) ならびに、anti-Siglec-F antibody (BD Biosciences) ならびに anti-Fc RI (MAR-1) (e-Biosciences) ならびに Biotinylated anti-ST2 antibody (DJ8) (MD Biosciences, Inc.) である。

4. 研究成果

AD 様皮膚炎を自然発症する **IL-33Tg** マウスを好塩基球のないマウスと交配あるいは抗体投与によって好塩基球を除去し、皮膚炎が減弱するという効果を観察したことで、AD の皮膚炎発症における好塩基球の役割が明らかとなった。また、**ILC2** を消去すると、皮膚炎は完全に消失した。これにより、**IL-33** の標的細胞が好塩基球と **ILC2** であることが明らかとなった。

また、さらなる検討において、好塩基球が **ILC2** を誘導・活性化することが判明したが、そのメカニズムを検討したところ、**IL-4** ノックアウトマウス由来の好塩基球を用いた場合は **ILC2** が分裂・活性化しなかったことから、好塩基球が分泌する **IL-4** が **ILC2** の分裂と活性化を促進することが明らかとなった。

以上から、**ILC2** や好塩基球を標的とした AD 治療においては、その活性化因子である **IL-4** や **IL-33** を阻害する戦略が好ましいことが判明した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Imai Y, Yasuda K, Nagai M, Kusakabe M, Kubo M, Nakanishi K, Yamanishi K. IL-33-induced atopic dermatitis-like inflammation in mice is mediated by group 2 innate lymphoid cells in concert with basophils, J Investig Dermatol, in press
DOI: 10.1016/j.jid.2019.04.016

Nagai M, Imai Y, Yamanishi K. Psoriasisiform dermatitis associated with common variable immunodeficiency 10 due to an Arg853* mutation in the NFKB2 gene. J dermatol, 46:e24-26, 2018.
DOI: 10.1111/1346-8138.14524

Nagai M, Imai Y, Wada Y, Kusakabe M, Yamanishi K. Serum procalcitonin and presepsin levels in patients with generalized pustular psoriasis, Dis Markers, Article ID 9758473, 2018.
DOI: 10.1155/2018/9758473

〔学会発表〕(計 5 件)

永井諒, 今井康友, 山西清文, 膿疱性乾癬患者では、敗血症マーカーであるプレセプシンが上昇している, 第 118 回日本皮膚科学会総会, 2019 年 6 月 6 日 (木) ~9 日 (日), 名古屋国際会議場 (愛知県, 名古屋市)

Nagai M, Wada Y, Kusakabe M, Imai Y, Yamanishi K. A case of late-onset localized epidermolysis bullosa simplex associated with a missense mutation of p.Asp158Ala in the head domain of keratin 5, The 6th Continental Congress of Dermatology, 2018 Nov 16-19, Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan

草壁みのり, 今井康友, 安田好文, 永井諒, 山西清文, カスパーゼ 1/11 が、IL-33 の分泌を制御して IL-33 誘導性アトピー性皮膚炎の増悪に関与するかもしれない, 第 48 回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会, 2018 年 11 月 16 日~18 日, 奈良春日野国際フォーラム (奈良県奈良市)

永井諒, 今井康友, 山西清文, 膿疱性乾癬の実臨床で有用な疾患活動性マーカー探索の試み, 第 33 回日本乾癬学会学術大会, 2018 年 9 月 7 日~8 日, 松山全日空ホテル(愛媛県松山市)

Imai Y, Nagai M, Kusakabe M, Yasuda K, Nakanishi K, Yoshimoto T, Yamanishi K. Ablation of basophils reduces ILC2-dependent atopic dermatitis-like inflammation in mice overexpressing interleukin-33 in the skin, International Investigative Dermatology 2018, 2018 May 16-19, the Rosen Shingle Creek, Orlando, USA

〔図書〕(計 0 件)

〔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:

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：
国内外の別：

〔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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：今井 康友

ローマ字氏名：IMAI, Yasutomo

研究協力者氏名：安田 好文

ローマ字氏名：YASUDA, Koubun

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。