

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16908

研究課題名(和文) アレルギー性鼻炎におけるILC2sを介した好酸球遊走調節機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanisms to induce eosinophilic inflammation through ILC2s in allergic rhinitis

研究代表者

戸嶋 一郎 (Tojima, Ichiro)

滋賀医科大学・医学部・講師

研究者番号：80567347

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)：アレルギー性鼻炎の病態における好酸球遊走機構を明らかにするため、鼻粘膜における2型自然リンパ球(ILC2)の働きに着目して検討した。通年性アレルギー性鼻炎(ダニ感作例)の鼻粘膜では正常コントロールと比較してILC2の割合が増加しており、浸潤好酸球数と正の相関を認めた。また鼻粘膜誘発テストにより鼻腔洗浄液中のプロスタグランジン(PG)D2とシステイニルロイコトリエン(cysLTs)が増加しており、これらが鼻粘膜中のILC2からのIL-5/IL-13産生を増加させ、遅発相における好酸球遊走の一因となると考えた。このようなPGD2刺激はラマトロバンで、cysLTs刺激はモンテルカストで抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性鼻炎単独の病態において、鼻粘膜中の2型自然リンパ球がアレルゲン刺激により即時相で産生されたプロスタグランジンD2とシステイニルロイコトリエンに反応してIL-5やIL-13を産生し、好酸球遊走に働く事を初めて明らかにすることで、アレルギー性鼻炎の病態の一端を解明した。これらの刺激はラマトロバン、モンテルカストにより抑制されるため、治療薬の新たな作用機序を明らかにしたこともつながる。

研究成果の概要(英文)：Prevalence of ILC2s in the inferior nasal turbinate (INT) tissues and the activating mechanisms of ILC2s were examined in patients with house dust mites (HDM)-induced allergic rhinitis (AR). The prevalence of ILC2s was increased in nasal mucosa of patients with HDM-induced AR, and it was positively correlated with the number of infiltrating eosinophils. ILC2s in the INT tissues expressed a prostaglandin D2 (PGD2) receptor, chemoattractant receptor-homologous molecule expressed TH2 cells (CRTH2), and a cysteinyl leukotrienes (cysLTs) receptor, CysLT1. After nasal provocation test, the number of eosinophils and concentrations of PGD2 and cysLTs were increased in the nasal lavage fluid from AR patients. PGD2 and cysLTs induced IL-5 production from cultured PBMC-derived ILC2s. PGD2-induced and cysLTs-induced production of IL-5 and IL-13 from ILC2s was completely inhibited by ramatroban, a dual CRTH2 and thromboxane receptor antagonist, and montelukast, a CysLT1 antagonist, respectively.

研究分野：アレルギー、鼻副鼻腔炎、気道、自然免疫

キーワード：アレルギー性鼻炎 2型自然リンパ球 システイニルロイコトリエン プロスタグランジンD2 好酸球 ラマトロバン モンテルカスト ハウスダスト

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) アレルギー性鼻炎の3主徴である、くしゃみ、水様性鼻漏、鼻閉のうち、くしゃみと水様性鼻漏は肥満細胞から放出されるヒスタミンなどを起点とする「即時相反応」にある。一方、鼻閉の主体はアレルギー暴露後数時間後の鼻粘膜への著明な好酸球浸潤を中心としたTh2サイトカイン(IL-5、IL-13など)依存性の「遅発相反応」にあるとされるが、アレルギー性鼻炎の病態における好酸球遊走の詳細な機序は明らかではない。

(2) 2010年にはじめて同定された2型自然リンパ球(ILC2)は多量のTh2サイトカインを放出することで知られており、特に上皮などから産生されるIL-33やIL-25、thymic stromal lymphopoietin (TSLP)などにより強く刺激され、またシステインルロイコトリエン(cysLTs:ロイコトリエン(LT)C4、LTD4、LTE4)やプロスタグランジンD2(PGD2)などの脂質メディエーターによっても刺激されることが明らかになってきた。以前われわれは、好酸球性副鼻腔炎の鼻茸中にILC2が増加し、浸潤好酸球数と相関すること、またアレルギー刺激により鼻茸上皮細胞から産生されるIL-33がILC2の活性化に重要であることを明らかにした。一方、アレルギー性鼻炎の病態におけるILC2については、アレルギー暴露後に末梢血中のILC2が増加することや、アレルギー免疫療法により末梢血中のILC2数が減少することが報告されているが、鼻粘膜におけるILC2についての報告はなく、その働きは明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

- (1) アレルギー性鼻炎の遅発相反応におけるILC2を介した好酸球遊走機構を解明すること。
- (2) アレルギー性鼻炎の鼻粘膜におけるILC2活性化に関わる機序を明らかにすること。
- (3) ILC2をターゲットにした、鼻閉に対する新たな治療手段の可能性を検討すること。

### 3. 研究の方法

- (1) 18名の通年性アレルギー性鼻炎患者(ヤケヒョウヒダニに感作)、13名の正常コントロールから同意を得て研究を行った。喫煙者、喘息、副鼻腔炎を併発する患者はすべて除外した。
- (2) 通年性アレルギー性鼻炎患者の下鼻甲介粘膜は下甲介切除術時に採取し、正常コントロールの下鼻甲介粘膜は副鼻腔腫瘍の手術時に採取した。
- (3) コントロールディスクとハウスダスト(ダニ)ディスクをそれぞれ用い、鼻粘膜誘発テストの前と誘発10分後に鼻腔洗浄液を回収し、症状スコアを記録した。鼻腔洗浄液中の各種メディエーターをELISA法で測定し、好酸球数をカウントした。
- (4) 協力者の末梢血や鼻粘膜中のILC2は、フローサイトメーターで分離し、培養・増殖させたのち、アレルギー性鼻炎もしくはアレルギーの病態に関与することが報告されている各種メディエーターを用いて刺激実験を行った。

### 4. 研究成果

(1) 鼻粘膜中のILC2割合と浸潤好酸球数の相関を調べたが、明らかな相関関係は見られなかった。近年、性ホルモンがILC2の割合に影響を与えることが報告されたことから、男性の検体だけを用いて再検討したところ、通年性アレルギー性鼻炎患者における鼻粘膜中のILC2割合は正常コントロールと比較して有意に増加していた( $P < 0.05$ )。また鼻粘膜中のILC2割合と浸潤好酸球数には正の相関関係が見られた( $P < 0.05$ ,  $R = 0.9$ )。ILC2は構造的にPGD2の受容体であるCRTH2を発現しているが、cysLTsの受容体であるCysLT1発現を検討したところ、通年性アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜におけるILC2は、正常コントロールと比較し、CysLT1発現が増強していた。

(2) ダニディスクを用いた鼻粘膜誘発テスト10分後において、通年性アレルギー性鼻炎患者では症状スコアが増悪し、鼻腔洗浄液中では好酸球数が増加し、PGD2とcysLTsの濃度が増加したが、正常コントロールではこれらの増加は認めなかった。またIL-33、IL-25、TSLP、CCL11、CCL26、IL-5、IL-13濃度については、いずれも各群ともに増加は認めなかった。

(3) ヒト末梢血由来のILC2を用い、ILC2を活性化する因子について広く検討した。使用したメディエーターのうち、PGD2とLTC4、LTD4、LTE4、IL-33、IL-25刺激によりILC2からのIL-5産生が増加した。一方、トロンボキサンA2、platelet-activating factor (PAF)、TSLP、ニューロキニンA、サブスタンスP、ヒスタミンなどではそのようなILC2活性化作用は認めなかった。正常コントロール由来のILC2と通年性アレルギー性鼻炎患者由来のILC2のIL-5産生能を比較検討するために、これらをPGD2やLTD4で刺激したところ、ともに通年性アレルギー性鼻炎患者由来のILC2においてIL-5産生能が亢進していた。

(4) PGD2刺激によるILC2からのIL-5/IL-13産生は、CRTH2/トロンボキサン(TP)受容体阻害薬であるラマトロバンで抑制された。LTC4、LTD4、LTE4刺激によるILC2からのIL-5/IL-13産生は、CysLT1受容体阻害薬であるモンテルカストで抑制された。

以上の研究結果をまとめると、通年性アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜ではILC2の割合が増加しており、鼻粘膜に浸潤する好酸球数と正の相関があった。またアレルギー刺激10分後に鼻粘膜で産生が増加したPGD2やcysLTs(LTC4、LTD4、LTE4)により、鼻粘膜のILC2は刺激され、IL-5/IL-13産生が増加することが明らかになった。そしてこのようなILC2からのIL-5/IL-13産生は、PGD2刺激がラマトロバンで、cysLTs刺激がモンテルカストで抑制された。

アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜における ILC2 についての報告は極めて少ないが、Dhariwal らは雑草花粉に感作された喘息を伴うアレルギー性鼻炎患者に対してアレルゲンを点鼻投与したところ、6 時間後に鼻粘膜を擦過したサンプル中の ILC2 数が増加すると報告した [Dhariwal, 2017]。喘息の影響が除外できないためアレルギー性鼻炎単独のメカニズムとは言えないが、アレルゲンが鼻粘膜に暴露されると、末梢血から鼻粘膜へと ILC2 が遊走されるのかもしれない。ILC2 が末梢血から鼻粘膜へと遊走されることについてはアスピリン喘息 (AERD) 患者を用いた報告があり、鼻茸を伴う AERD 患者に対しシクロオキシゲナーゼ阻害薬を経口投与することでアレルギー反応をおこさせると、鼻粘膜中の ILC2 が増加して末梢血中の ILC2 が減少することが示された [Eastman, 2017]。今回の研究では喘息患者を除外しており、通年性アレルギー性鼻炎単独での病態として検討したうえで、鼻粘膜中の ILC2 がその病態形成に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

今回の検討では鼻粘膜誘発テスト 10 分後の洗浄液中において、通年性アレルギー性鼻炎群でも IL-33 や IL-25、TSLP の産生亢進は見られなかったが、これら上皮由来のサイトカインがアレルギー性鼻炎の病態にどの程度影響するかは今後の検討課題である。

PGD2 の受容体は DP1、CRTH2、TP が存在する。DP1 は主に抗炎症に働く。TP はトロンボキサン A2 に高い affinity を持つことが知られているが、本検討ではトロンボキサン A2 は ILC2 を刺激しなかった。PGD2 刺激は CRTH2/TP 受容体阻害薬であるラマトロバンで抑制されたことから、PGD2 は主に CRTH2 を介して ILC2 を刺激すると考えた。

LTE4 は LTC4 や LTD4 と比べ、CysLT1 受容体への affinity が低いことが知られているが、近年 LTE4 も CysLT1 の強力な agonist であることが報告された [Foster, 2016]。今回の検討でも、LTE4 による ILC2 刺激は CysLT1 受容体阻害薬であるモンテルカストによりほぼ完全に抑制された。

以上のようにラマトロバンやモンテルカストには、従来想定されていなかった、鼻粘膜中の ILC2 を介したアレルギー炎症抑制作用があることが明らかとなった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tojima Ichiro, Matsumoto Koji, Kikuoka Hiroataka, Hara Shiori, Yamamoto Sayuri, Shimizu Shino, Kouzaki Hideaki, Shimizu Takeshi	4. 巻 74
2. 論文標題 Evidence for the induction of Th2 inflammation by group 2 innate lymphoid cells in response to prostaglandin D <sub>2</sub> and cysteinyl leukotrienes in allergic rhinitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 2417～2426
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/all.13974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tojima Ichiro, Shimizu Takeshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Group 2 innate lymphoid cells and eosinophilic chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 18～25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/ACI.0000000000000496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsumoto Koji, Kouzaki Hideaki, Kikuoka Hiroataka, Kato Tomohisa, Tojima Ichiro, Shimizu Shino, Shimizu Takeshi	4. 巻 67
2. 論文標題 Soluble ST2 suppresses IL-5 production by human basophilic KU812 cells, induced by epithelial cell-derived IL-33	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 S32～S37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2018.05.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Shino, Takezawa-Yasuoka Kumiko, Ogawa Takao, Tojima Ichiro, Kouzaki Hideaki, Shimizu Takeshi	4. 巻 188
2. 論文標題 The epidermal growth factor receptor inhibitor AG1478 inhibits eosinophilic inflammation in upper airways	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1～6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.clim.2017.11.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tojima Ichiro, Shimizu Takeshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Arachidonic acid metabolites-induced activation of group 2 innate lymphoid cell in eosinophilic upper airway inflammation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Japan Society of Immunology & Allergology in Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 217 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5648/jjiao.37.217	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 戸嶋一郎、清水猛史	4. 巻 26
2. 論文標題 特集 スギ・ヒノキ花粉症 最新の話題 . 病因論に関する話題 3. ILC2とアレルギー性鼻炎	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アレルギー・免疫	6. 最初と最後の頁 172 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20837/3201902172	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 戸嶋一郎	4. 巻 38
2. 論文標題 【鼻副鼻腔における免疫アレルギー疾患への対応】慢性副鼻腔炎における自然リンパ球の関与	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 1121-1124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Ichiro Tojima
2. 発表標題 The role of group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) in the pathogenesis of allergic rhinitis
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸嶋一郎
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎における脂質メディエーターを介した鼻粘膜2型自然リンパ球の役割
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ichiro Tojima
2. 発表標題 The Role of Group 2 Innate Lymphoid Cells (ILC2s) in the Pathogenesis of Allergic Rhinitis
3. 学会等名 ILC2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸嶋一郎
2. 発表標題 上気道の好酸球性炎症における脂質メディエーターを介した2型自然リンパ球活性化機構
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ichiro Tojima
2. 発表標題 ILC2s in eosinophilic chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis
3. 学会等名 57th Korean Rhinologic Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸嶋一郎
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎の好酸球遊走機構におけるILC2の関与
3. 学会等名 第56回日本鼻科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ichiro Tojima
2. 発表標題 Role of group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) during eosinophil infiltration in allergic rhinitis
3. 学会等名 The 3rd Rhinology Research Forum in Asia (RReFA) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 戸嶋一郎
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎におけるgroup 2 innate lymphoid cells (ILC2)の役割
3. 学会等名 第36回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2018年

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----