

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08910

研究課題名(和文) IL-33受容体発現好塩基球の関節リウマチ病態形成における役割の解明

研究課題名(英文) The role of IL-33 receptor-expressing basophils in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

研究代表者

有信 洋二郎 (Arinobu, Yojiro)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：90467928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：IL-33は、炎症惹起、感染防御、組織修復といった多彩な機能を有する。関節リウマチの病態形成においても何らかの役割を果たすであろうと考えられているが、その詳細は未だ不明である。本研究において我々は、ヒト血液細胞の中で好塩基球が最も強くIL-33受容体を発現しており、IL-33刺激により好塩基球からのTNF-alphaやRANKLの産生が誘導されることを明らかにした。好塩基球上に発現したRANKLは破骨細胞への分化誘導能を有しており、活動性関節リウマチ患者では、このRANKL発現が高かった。これらの結果から、IL-33反応性好塩基球は、関節リウマチの病態形成に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GWASやパスウェイ解析の結果から、サイトカイン-獲得免疫系が関節リウマチの主たる病態を形成していることは間違いない。これらを治療標的とした近年の治療法の進歩により、関節リウマチの治療成績は飛躍的に向上した。一方で、現在の治療に対しても未だに抵抗性を示す一群も存在する。この理由の一つに、まだ解明できていない病態があり、その制御が不十分な可能性がある。今回我々は、IL-33-好塩基球という新たな軸に着目し、関節リウマチの病態形成における役割の可能性を示した。これらの結果は、関節リウマチの病態形成の新たな側面を示すのみならず、新規治療戦略構築にも貢献すると考える。

研究成果の概要(英文)：IL-33 has a variety of functions, including induction of inflammation, protection against infection, and tissue repair. It is thought to play a role in the development of rheumatoid arthritis, but the details of this role are still unknown. In this study, we found that basophils express the IL-33 receptor most strongly among human blood cells and that IL-33 stimulation induces the production of TNF-alpha and RANKL from basophils. RANKL expressed on basophils has the ability to induce differentiation into osteoclasts, and this RANKL expression was higher in patients with active rheumatoid arthritis. These results suggest that IL-33-responsive basophils may be involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

研究分野：リウマチ膠原病学、臨床免疫学

キーワード：関節リウマチ 好塩基球 IL-33 RANKL TNF-alpha

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Interleukin-33 (IL-33)は、IL-1 サイトカインファミリーに属するサイトカインである。当初は主に Th2 炎症を誘導するサイトカインと考えられたが、血液細胞のみならず、脂肪細胞、心筋細胞、神経細胞に対する作用も有し、感染防御や代謝、組織修復など、多彩な役割を果たすことが明らかになってきた。

IL-33 と疾患についても新たな知見が得られており、呼吸器・アレルギー性疾患のみでなく、炎症性腸疾患、心血管疾患、神経疾患などの関与が報告されている。関節リウマチに関しては、モデルマウスを用いた検討にて、IL-33 投与が関節炎を悪化させる、IL-33 受容体阻害により関節炎や骨びらんが軽減すると報告された。ヒトにおいても、関節リウマチ患者では滑膜線維芽細胞からの IL-33 が亢進している、血清 IL-33 濃度と骨破壊が相関するなど報告された。更には、IL-33 遺伝子多型と関節リウマチ発症の相関も報告されている。

マウス、ヒトでこれまでに得られた結果から、IL-33 は関節リウマチの病態形成に関与すると考えられるが、その詳細に関しては不明である。

2. 研究の目的

今回我々は、ヒト関節リウマチの病態形成における IL-33 の役割を明らかにすることを目的として研究を行った。

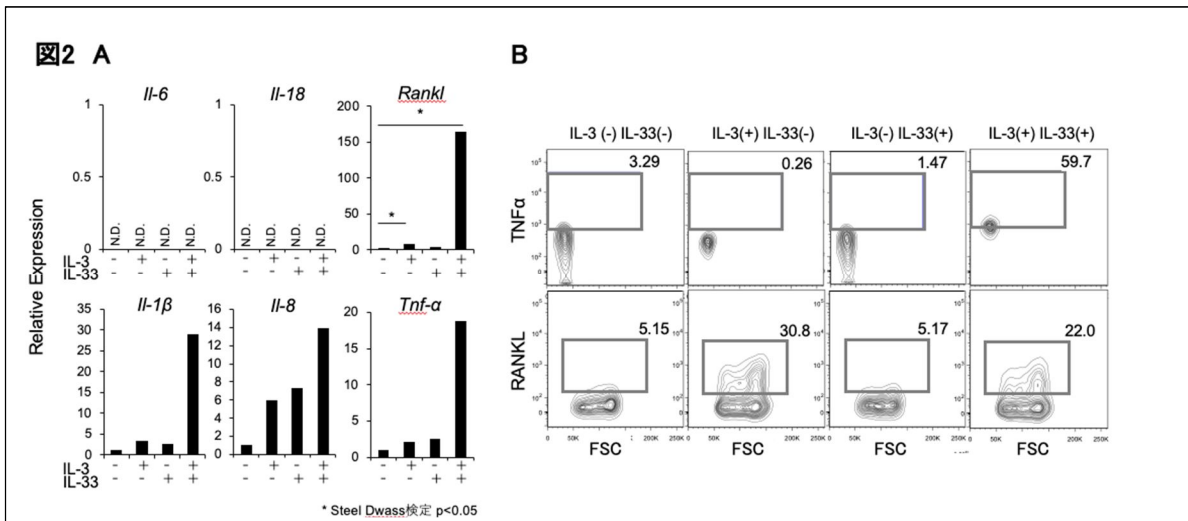
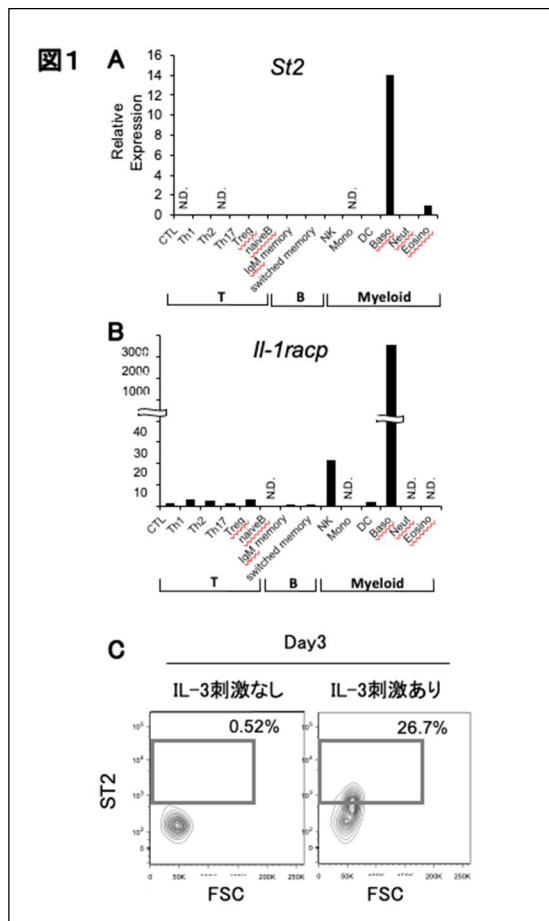
3. 研究の方法

- (1) ヒト白血球分画における IL-33 受容体発現細胞の同定
- (2) IL-33 受容体発現好塩基球のサイトカイン産性能の検討
- (3) 好塩基球上に発現した RANKL の破骨細胞分化誘導能の検討
- (4) 関節リウマチ患者の好塩基球における RANKL 発現の検討

4. 研究成果

(1) ヒト白血球分画における IL-33 受容体発現細胞の同定
IL-33 受容体は ST2 と IL-1RAcP により構成される。ヒト末梢血を各分画に単離し、ST2 及び IL-1RAcP の mRNA 発現を検討した。ST2 及び IL-1RAcP mRNA の両者を強く発現するのは、好塩基球のみであった(図1 A, B)。蛋白レベルでは、IL-3 による好塩基球の活性化により ST2 蛋白の発現が増強することがわかった(図1 C)。

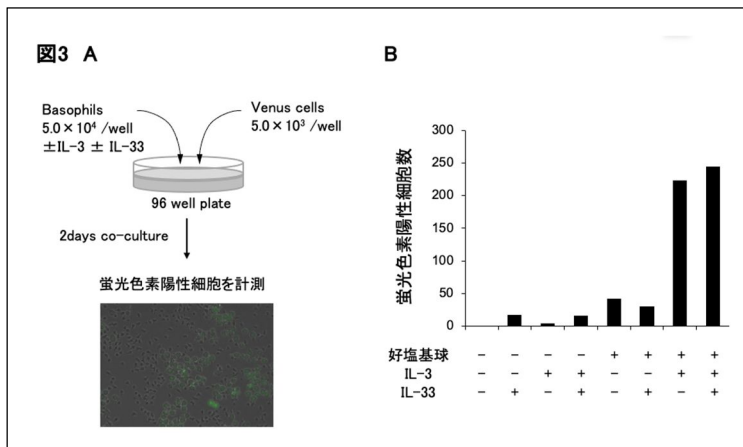
(2) IL-33 受容体発現好塩基球のサイトカイン産性能の検討
IL-33 受容体発現好塩基球を IL-33 刺激した際のサイトカイン産性能について検討した。IL-33 刺激により、IL-1 β 、IL-8、TNF- α などの炎症性サイトカイン、及び RANKL の mRNA 発現が誘導された。この発現は、好塩基球を活性化する IL-3 との共刺激により増強した(図2 A)。関節リウマチの病態形成において重要な役割を果たす TNF- α 、RANKL に関しては、蛋白レベルにおいてもその発現誘導を確認した(図2 B)。



* Steel Dwass検定 p<0.05

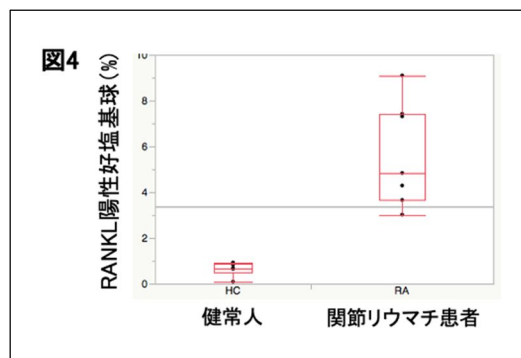
(3) 好塩基球上に発現した RANKL の破骨細胞分化誘導能の検討

好塩基球上に発現した RANKL に破骨細胞分化誘導能があるかどうかを検討するために、RAW264-D 細胞に、Cathepsin K promotor 下に Venus 遺伝子を連結した plasmid を導入した RAW264 reporter cell を用いた。IL-3 及び/もしくは IL-33 にて刺激した好塩基球と、RAW264 reporter cell を共培養し、48 時間後の蛍光色素陽性細胞数を計測した(図3A)。RANKL 発現好塩基球には、破骨細胞への分化誘導能が認められたが、IL-33 刺激による追加効果は認められなかった(図3A)。



(4) 関節リウマチ患者の好塩基球における RANKL 発現の検討

活動性の関節リウマチ患者において、好塩基球上の RANKL 発現が亢進しているかどうか検討した。健常人と比較して、活動性関節リウマチ患者においては、好塩基球上の RANKL 発現が亢進していることがわかった(図4)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ayano M, Arinobu Y, Tsukamoto H, et. al.	4. 巻 40
2. 論文標題 Shoulder ultrasound and serum lactate dehydrogenase predict inadequate response to glucocorticoid treatment in patients with polymyalgia rheumatica.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatol Int.	6. 最初と最後の頁 1101-1109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00296-020-04512-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Inokuchi S, Mitoma H, Kawano S, et. al.	4. 巻 204
2. 論文標題 Homeostatic Milieu Induces Production of Deoxyribonuclease 1-like 3 from Myeloid Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 2088-2097
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1901304.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Endo Y, Kawashiri SY, Morimoto S, et. al.	4. 巻 43
2. 論文標題 Non-TNF inhibitor switchers versus TNF inhibitor cyclers from multicentre rheumatoid arthritis ultrasonography prospective cohort in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Immunol Med.	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/25785826.2020.1757920.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Higashioka K, Ota Y, Maehara T, et. al.	4. 巻 21
2. 論文標題 Association of circulating SLAMF7+Tfh1 cells with IgG4 levels in patients with IgG4-related disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Immunol.	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12865-020-00361-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takaki-Kawahara A, Arinobu Y, Miyawaki K, et.al.	4. 巻 21
2. 論文標題 CCR6+ group 3 innate lymphoid cells accumulate in inflamed joints in rheumatoid arthritis and produce Th17 cytokines.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther	6. 最初と最後の頁 198-207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-019-1984-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Endo Y, Koga T, Kawashiri SY, et al.	4. 巻 49
2. 論文標題 Anti-citrullinated protein antibody titre as a predictor of abatacept treatment persistence in patients with rheumatoid arthritis: a prospective cohort study in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scand J Rheumatol	6. 最初と最後の頁 13-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03009742.2019.1627411.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakayama T, Yoshimura M, Higashioka K, et al.	4. 巻 360
2. 論文標題 Type 1 helper T cells generate CXCL9/10-producing T-bet+ effector B cells potentially involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Immunol	6. 最初と最後の頁 104263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cellimm.2020.104263.	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 Arinobu Y, Kashiwado Y, Miyawaki K, et al.	4. 巻 100
2. 論文標題 Autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndrome predict a poor prognosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e25406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000025406	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 Irin K, Arinobu Y, Ayano M, et al.	4. 巻 30
2. 論文標題 Predictive factors of fetal and maternal pregnancy outcomes in Japanese patients with systemic lupus erythematosus.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lupus	6. 最初と最後の頁 1637-1643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/09612033211031989	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 Higashioka K, Yoshimura M, Sakuragi T, et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Human PD-1 hi CD8 + T Cells Are a Cellular Source of IL-21 in Rheumatoid Arthritis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 654623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.654623	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大塚恭子、有信洋二郎、入野健佑、小野伸之、井上靖、井上久子、綾野雅宏、木本泰孝、三苫弘喜、赤星光輝、赤司浩一、堀内孝彦、新納宏昭
2. 発表標題 上皮細胞由来サイトカインを用いたANCA関連血管炎の病型分類についての検討
3. 学会等名 第63回 日本リウマチ学会・学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学医学部第一内科
<https://www.1nai.med.kyushu-u.ac.jp>

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
---------	---------