

令和 3 年 4 月 20 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23858

研究課題名（和文）新規IL-33活性化機構解明による慢性アレルギー性疾患治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a new treatment for chronic allergic diseases by elucidating the novel activation mechanism of IL-33

研究代表者

熊谷 仁 (Kumagai, Jin)

千葉大学・医学部附属病院・特任助教

研究者番号：30846142

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：気管支喘息を含めたアレルギー性気道炎症に罹患している患者数増加し続けている。特効薬というものはまだなく、症状を抑える治療が主である。今回、アレルギー性気道炎症の中心的な役割を担っている細胞（Th2細胞）について研究を行った。Th2細胞はインターロイキン33（IL-33）という炎症を引き起こす物質を分泌することで病気を悪化させることが知られている。このIL-33の活性化を引き起こす物質と、その物質の分泌を制御する仕組みを今回の研究で明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、アレルギー性気道炎症が悪化する原因の一部を解明することができた。具体的には、アレルギー性気道炎症を引き起こす上で重要な役割をしている物質（サイトカイン）としてインターロイキン33というものが知られている。このサイトカインを活性化すると思われる物質を突き止めるために研究を行った。さらに、その物質の分泌を制御する仕組みについても新たに明らかにすることができた。これらの新しい発見により、気管支喘息をはじめとしたアレルギー性気道炎症の新規治療法の開発に繋がるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The number of patients suffering from allergic airway inflammation, including bronchial asthma, continues to increase. There is no silver bullet yet, and the main treatment is to control the symptoms. This time, we conducted research on Th2 cells which play a key role in allergic airway inflammation. Th2 cells are known to exacerbate the disease by secreting interleukin 33 (IL-33), a cytokine that causes inflammation. In this study, we clarified the substance X that causes the activation of IL-33 and the mechanism that controls the secretion of the substance X.

研究分野：免疫学

キーワード：アレルギー性気道炎症 Th2細胞

## 1. 研究開始当初の背景

喘息をはじめとするアレルギー性疾患の患者数は先進国、発展途上国を問わず増加の一途をたどっている。最重症の喘息は現代の医学をもってしても死に至る病であり、世界的に見ると年間 42 万人の患者が死亡している (The Global Asthma Report, 2018)。根本的治療法は存在せず、対症療法のみである点が問題であり、効果的な新規治療法の開発が急務である。炎症性サイトカインのインターロイキン 33(IL-33)は、アレルギー性炎症の病態形成において重要な役割を担い、喘息もその例外ではない。IL-33 は特定のプロテアーゼで切断されることで、非常に強力な生理活性を示すことが近年解明されてきた。IL-33 の活性化に関する制御機構を明らかにすることは、喘息をはじめとするアレルギー性疾患の根治的治療法の開発への鍵となると考えられ、非常に重要な研究課題である。

## 2. 研究の目的

喘息の炎症局所における IL-33 活性化機構を明らかにすることは、気管支喘息の全く新しい切り口からの治療法開発を実現する。私はこれまでの研究によって、喘息の炎症気道局所に多数存在する Th2 細胞の中にセリンプロテアーゼの一つ(ここでは分子 X とする)を産生する病原性 Th2 細胞が存在することを明らかにしてきた。大変興味深いことに、*in vitro* の検討で、分子 X は IL-33 を切断することが示唆されている。以上、Th2 細胞が分子 X を産生すること、そして分子 X が IL-33 を切断することは新たな発見であり、IL-33 が深く関与するアレルギー性疾患の新規治療法開発につながる可能性を大いに含んでいるものと考えられた。そこで、この分子 X が IL-33 を切断することで実際に IL-33 の活性化を引き起こし、その結果としてアレルギー性気道炎症の病態形成に寄与しているのかを明らかにすることを本研究の 1 つ目の目的とした。さらに、Th2 細胞内における分子 X の産生制御メカニズムを明らかにすることを 2 つ目の目的とした。

## 3. 研究の方法

(1)分子 X が IL-33 を切断しアレルギー性気道炎症の病態形成に寄与するかを明らかにする方法  
分子 X とリコンビナント IL-33 を反応させたのちに得られるタンパク検体に対して質量分析(LC-MS/MS)を行い、切断部位の同定を行う。既報によると切断部位の違いによって、IL-33 の活性化と不活性化の両方が起こり得ることが知られており、切断部位の同定によって分子 X が炎症を惹起する方向に働いているのかを明らかにする。

分子 X と反応させた IL-33 を実際にマウスの気道へ投与することでアレルギー性気道炎症を惹起し得るのかを確かめる。

分子 X の遺伝子欠損マウスを用いてアレルギー性気道炎症マウスモデルでの炎症の程度を評価する。

(2)Th2 細胞内における分子 X の産生制御メカニズムを明らかにする方法

先行研究によって分子 X の上流に位置すると思われる候補分子 Y を同定している。その候補分子 Y の遺伝子欠損マウスを用いた *in vitro* での分子 X 産生能の評価を行う。

分子 Y の遺伝子欠損マウス由来の Th2 細胞について RNA-seq を行い、網羅的な遺伝子発現パターンの変化を調べる。

## 4. 研究成果

(1)IL-33 切断に関する研究

上記の通り、LC-MS/MS による解析を計画していたが、今回扱っている分子 X の切断ターゲットとなる配列が LC-MS/MS での解析に適さないことが判明し、今回の研究期間中には著しい成果を得ることができていない。

(2)Th2 細胞における分子 X の産生制御メカニズムを明らかにするための研究

上記の候補分子 Y が分子 X の産生制御に関わっていることがより確からしいと言える実験データを得ることができた。具体的には候補分子 Y の条件付き遺伝子欠損マウスを用いて Th2 細胞の分化実験を行ったところ、確かに分子 X の産生が著しく低下していた。これは RT-qPCR によって mRNA レベルでも低下しており、かつ FACS にてタンパクレベルでも低下していることを確認

した。

候補分子 Y の遺伝子欠損マウス由来の Th2 細胞に対して RNA-seq も施行した。その結果、興味深いことに分子 X と同じグループに属する分子 Z も同様に mRNA レベルで発現低下していることが判明した。ヒト喘息患者において、これら分子 X と分子 Z の発現が亢進していたとする既報もあり、これらの上流に候補分子 Y が位置しているという興味深い結果が得られたと考えている。

さらに、候補分子 Y と分子 X の間に存在すると思われる転写因子についての解析も行った。すると、候補分子 Y の遺伝子欠損マウス由来 Th2 細胞では、ある転写因子の活性化が起こりにくいことが明らかとなった。そして、この転写因子の分子 X と分子 Z の転写調節領域への結合の程度を ChIP-seq で確認したところ、確かに結合が低下していることが分かった。

以上の結果から、分子 X の制御機構として、新規に分子 Y と転写因子の 1 つが関与していることを解明することができたと言える。

今後は、これらの知見からアレルギー性気道炎症の治療法の開発に繋げていくことが求められる。

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