

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08562

研究課題名（和文）喘息の気道上皮細胞における“炎症記憶”に関する研究

研究課題名（英文）Role of 'immune memory' of airway epithelial cells in asthma

研究代表者

横田 雅也（Yokota, Masaya）

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：70721950

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：気道上皮は2型ヘルパーT細胞や2型自然リンパ球の活性化を介してアレルギー性炎症の発症や進展に重要な役割を果たしているが、気道上皮に発現する転写因子STAT3の役割はいまだ不明な点が多い。本研究者は、チリダニ抗原誘導性気道炎症モデルと次世代シーケンサーを用いて、気道上皮細胞に発現するSTAT3とその下流の脂質代謝酵素であるSCD1（stearoyl-CoA desaturase 1）の軸が、アレルギー性気道炎症の抑制に重要な働きをしていることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性気道炎症における上皮細胞STAT3の役割として、SCD1を介した炎症抑制という新たな知見を示し、喘息の新規治療標的を見出した点で大きな意義がある。

研究成果の概要（英文）：Airway epithelial cells (AECs) play a crucial role in the induction and development of allergic inflammation through the development and activation of immune cells, including type 2 helper T cells and type 2 innate lymphoid cells. However, the role of STAT3 expressed in airway epithelium is largely unknown. We have shown that STAT3 and its downstream, SCD1 (stearoyl-CoA desaturase 1) in airway epithelial cells, play an important role in suppressing allergic airway inflammation.

研究分野：リウマチ、アレルギー、膠原病

キーワード：気管支喘息 気道上皮細胞 STAT3 SCD1

### 1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は気道を場としたアレルギー性慢性炎症であり、気道過敏性が亢進し種々の刺激により発作が引き起こされる。重篤な発作は過去の発作の既往と強く相関することから、一旦生じたアレルギー性炎症により、炎症が収束した後も発作を生じやすい状態が記憶されていることが示唆される。一方、近年の研究によりアレルギー性気道炎症の惹起には気道上皮細胞が重要な働きを持つことが示された。気道上皮細胞が炎症を記憶する能力を持ち、その“炎症記憶”が難治性喘息の病態に関与する可能性があるが、その詳細は依然不明である。また近年、腸管において上皮細胞に発現する転写因子 STAT3 が、感染防御や恒常性の維持に関わることが明らかとなったが、気道上皮に発現する STAT3 の役割ははまだ不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

(1) 気道上皮細胞の炎症記憶の成立・維持機構、およびその難治性喘息における役割を解明することを目的とした。

(2) アレルギー性気道炎症における上皮に発現する STAT3 の役割を明らかにし、喘息の病態の解明とそれに基づく新規治療法の開発基盤を構築することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) HDM によりアレルギー性気道炎症を起こした野生型マウスの気道上皮細胞における経時的な遺伝子発現の変化を定量的 PCR で解析した。

(2) ドキシサイクリン誘導性に気道上皮細胞特異的に STAT3 を欠損したマウス (STAT3-cKO) とその genetic control マウス (STAT3-WT) を用い、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症における気道上皮細胞 STAT3 の役割を評価した。

(3) STAT3 を介したアレルギー性気道炎症の抑制に関わる下流分子を探索するため、STAT3-cKO、STAT3-WT マウスに HDM を投与し、Day9 に気道上皮細胞を単離し RNA シークエンス解析を行った。

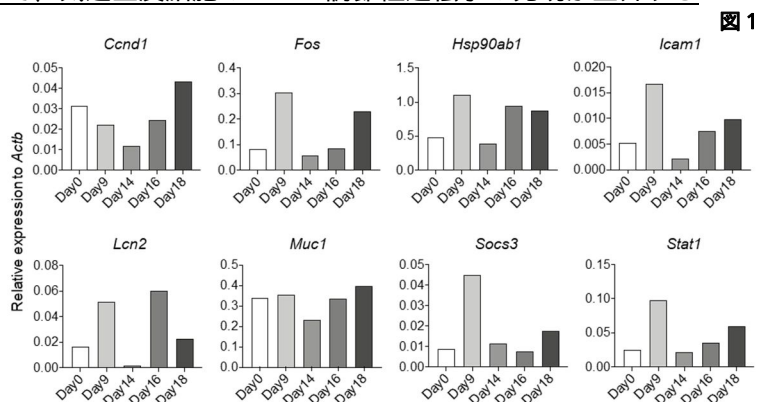
(4) 野生型マウスを用いて SCD1 阻害剤の HDM 誘導性気道炎症に対する効果を評価した。

(5) STAT3 を介した SCD1 発現の役割を解析するために、対照群と SCD1 阻害剤投与群の気道上皮細胞を Day9 に単離し、RNA シークエンス解析を行った。先の RNA シークエンス解析と共通する発現変動遺伝子についてエンリッチメント解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) HDM 誘導性気道炎症において、気道上皮細胞の STAT3 調節性遺伝子の発現が上昇する

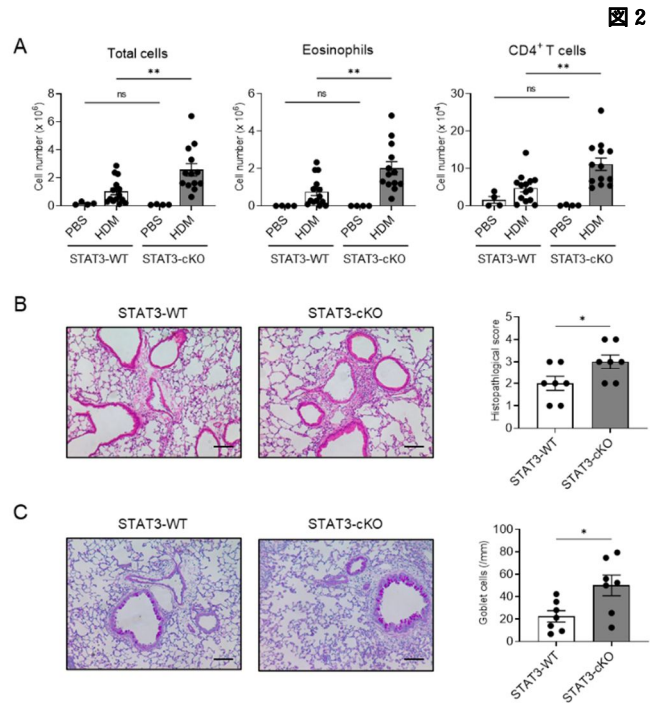
気道上皮細胞の炎症記憶が成立するメカニズムを明らかにするため、まず HDM によりアレルギー性気道炎症を起こした野生型マウスから気道上皮細胞を単離し、経時的な遺伝子発現変化を定量的 PCR で解析した。その結果、HDM 気道炎症の経過中、*Fos*、*Socs3* な



ど複数の STAT3 調節性遺伝子の発現上昇を認め、その多くの遺伝子では Day9 で最も発現が上昇した (図 1)。

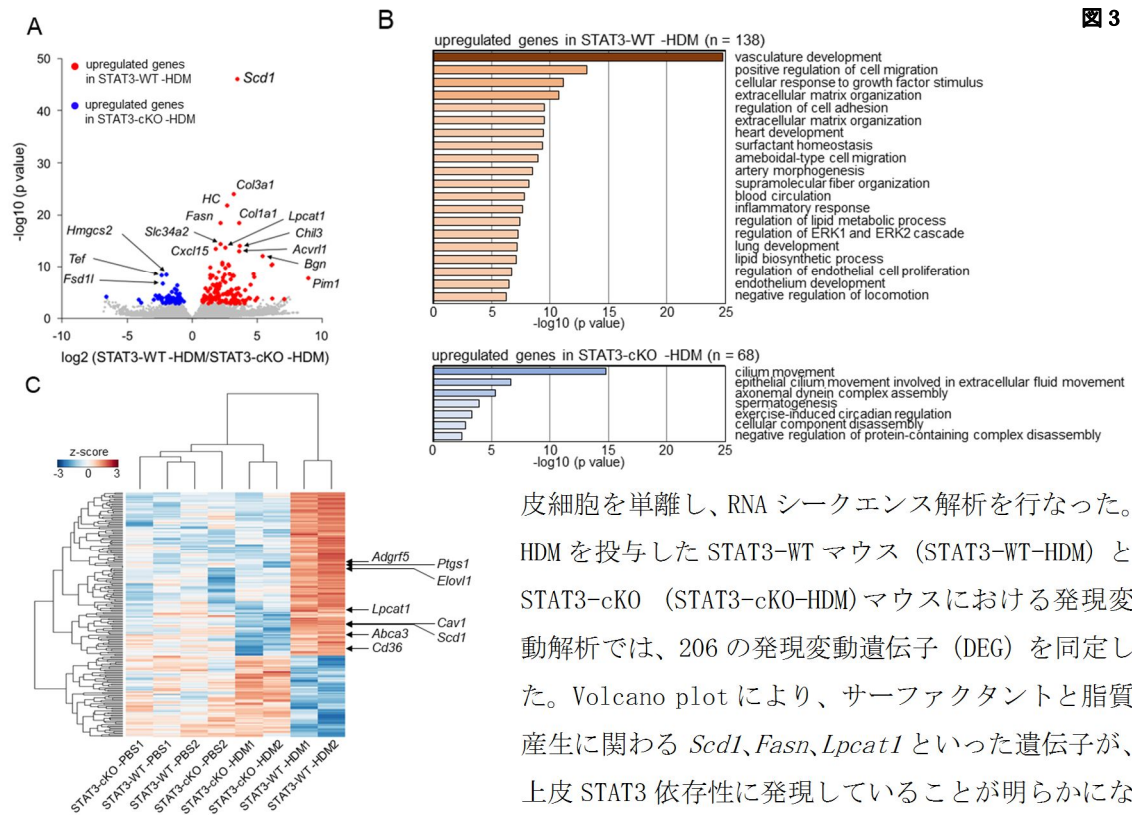
(2) 気道上皮特異的 STAT3 欠損 (STAT3-cKO) マウスでは、HDM 誘導性気道炎症が悪化する

次に、気道上皮細胞に発現する STAT3 の HDM 誘導性喘息モデルにおける役割を調べるため、ドキシサイクリン誘導性に気道上皮細胞特異的に STAT3 を欠損したマウス (STAT3-cKO) とその genetic control マウス (STAT3-WT) における、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症を評価した。その結果、STAT3-WT と比較し STAT3-cKO マウスで有意に好酸球性気道炎症が増悪し (図 2A,B)、杯細胞過形成も STAT3-cKO マウスで増強した (図 2C)。この結果から、気道上皮細胞に発現する STAT3 は HDM 誘導性気道炎症を抑制することが示された。



(3) STAT3-cKO マウスから単離した気道上皮細胞では、HDM 誘導性アレルギー性炎症において脂肪酸不飽和化酵素である stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) の発現上昇が障害される

気道上皮の STAT3 シグナリングが HDM 誘導性アレルギー性炎症を抑制するメカニズムを明らかにするため、HDM または PBS を投与した STAT3-WT または STAT3-cKO マウスから Day9 に気道上



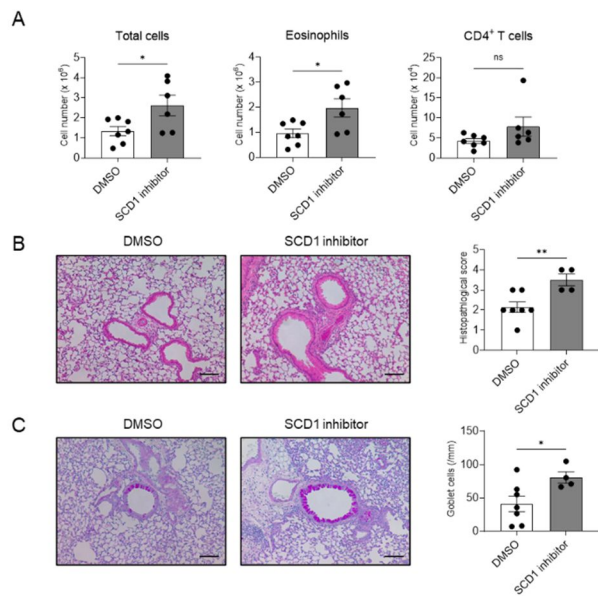
皮細胞を単離し、RNA シークエンス解析を行なった。HDM を投与した STAT3-WT マウス (STAT3-WT-HDM) と STAT3-cKO (STAT3-cKO-HDM) マウスにおける発現変動解析では、206 の発現変動遺伝子 (DEG) を同定した。Volcano plot により、サーファクタントと脂質産生に関わる *Scd1*, *Fasn*, *Lpcat1* といった遺伝子が、上皮 STAT3 依存性に発現していることが明らかになった。特に、脂肪酸不飽和化酵素である stearoyl-

CoA desaturase 1 を code する *Scd1* が最も有意に STAT3-WT で上昇していた (図 3A)。DEG に対するエンリッチメント解析では、Volcano plot と同様に、STAT3-WT で上昇していた DEG にサーファクタント恒常性と脂質生成過程に関連した遺伝子がエンリッチされていることが明らかとなった (図 3B)。さらに、DEG の階層クラスタリングの heat map において、STAT3-cKO-HDM は STAT3-WT-HDM と離れており、STAT3-WT-PBS、STAT3-cKO-PBS と近いことから、STAT3-cKO マウスの気道上皮細胞では HDM 投与に対する応答が障害されていることが示唆された (図 3C)。これらの結果から、*Scd1* が HDM 誘導性アレルギー性気道炎症において STAT3 調節性遺伝子の一つであることが示唆された。

(4) SCD1 阻害薬の投与により、HDM 誘導性気道炎症は悪化する

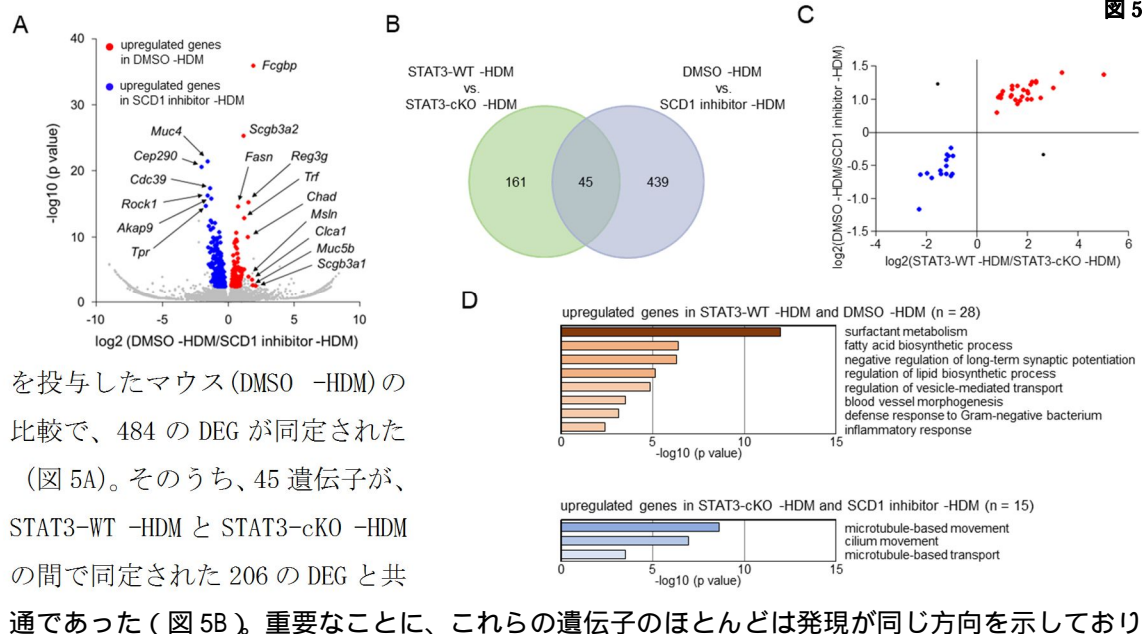
図 4

次に、HDM を投与された野生型マウスの気道上皮細胞における SCD1 の発現上昇が、アレルギー性気道炎症の抑制に重要であるかを調べるため、SCD1 阻害薬である A939572 の HDM 誘導性気道炎症に対する効果を評価した。その結果、A939572 の投与により、好酸球性気道炎症と杯細胞過形成は有意に増悪したことから (図 4A, B, C) SCD1 が HDM 誘導性アレルギー性気道炎症の抑制に重要な役割を果たしていることが示唆された。



(5) STAT3-SCD1 軸は、脂質代謝を介し肺の恒常性に寄与している

HDM 誘導性アレルギー性気道炎症における、STAT3 介在性の SCD1 発現の役割を調べるため、A939572 または vehicle を投与した野生型マウスから単離した気道上皮細胞を用いて RNA シークエンス解析を行なった。HDM と SCD1 を投与したマウス (SCD1 inhibitor-HDM) と HDM と vehicle



を投与したマウス (DMSO -HDM) の比較で、484 の DEG が同定された (図 5A)。そのうち、45 遺伝子が、STAT3-WT -HDM と STAT3-cKO -HDM の間で同定された 206 の DEG と共通であった (図 5B)。重要なことに、これらの遺伝子のほとんどは発現が同じ方向を示しており

(図 5C) HDM 誘導性気道炎症において SCD1 が STAT3 の機能的な下流分子であることを支持する結果であった。最後に、45 の DEG についてエンリッチメント解析を行なったところ、サーファクタント恒常性、脂肪酸生合成過程、脂質生合成過程の調節の ontology クラスタが、発現上昇した DEG でエンリッチされていた(図 5D)。SCD1 阻害剤により HDM 誘導性アレルギー性気道炎症が増悪したことを鑑みると、以上の結果から、アレルギー性気道炎症において STAT3-SCD1 軸が脂質代謝を介して肺の恒常性に寄与していることが示唆された。(文献 1)

#### 引用文献

1) Nishimura N, Yokota M, et al. Allergol Int.2022;71(4):520-527.



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Saku Aiko, Suehiro Ken ichi, Nakamura Kaito, Nishimura Nozomi, Yokota Masaya, Hirose Koichi, Nakajima Hiroshi	4. 巻 75
2. 論文標題 Mice lacking fucosyltransferase 2 show reduced innate allergic inflammation in the airways	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 1253 ~ 1256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.14101	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 Saku Aiko, Hirose Koichi, Kageyama Takahiro, Kono Kenta, Nakamura Kaito, Yokota Masaya, Maezawa Yuko, Suto Akira, Nakajima Hiroshi	4. 巻 69
2. 論文標題 T cells enhance TSLP production and ILC2 accumulation in house dust mite-induced allergic airway inflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 132 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.05.010	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 Nishimura Nozomi, Yokota Masaya, Kurihara Shunjiro, Iwata Arifumi, Kageyama Takahiro, Ito Takashi, Saku Aiko, Maezawa Yuko, Hirose Koichi, Nakajima Hiroshi	4. 巻 71
2. 論文標題 Airway epithelial STAT3 inhibits allergic inflammation via upregulation of stearyl-CoA desaturase 1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 520 ~ 527
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2022.05.002	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 Kasuya Tadamichi, Tanaka Shigeru, Tamura Jun, Etori Keishi, Shoda Jumpei, Hattori Koto, Endo Yusuke, Kitajima Masayuki, Kageyama Takahiro, Iwamoto Taro, Yokota Masaya, Iwata Arifumi, Suto Akira, Suzuki Kotaro, Suzuki Harumi, Ziegler Steven F., Nakajima Hiroshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Epithelial cell-derived cytokine TSLP activates regulatory T cells by enhancing fatty acid uptake	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-28987-1	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 Suzuki Kazumasa, Suzuki Kotaro, Yabe Yoko, Iida Kazuma, Ishikawa Junichi, Makita Sohei, Kageyama Takahiro, Iwamoto Taro, Tanaka Shigeru, Yokota Masaya, Iwata Arifumi, Suto Akira, Nakajima Hiroshi	4. 巻 142
2. 論文標題 NF- B1 Contributes to Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation by Inducing V 4+V 4+ T17 Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1639 ~ 1649.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.11.004	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 Yokoyama Yusuke, Tamachi Tomohiro, Iwata Arifumi, Maezawa Yuko, Meguro Kazuyuki, Yokota Masaya, Takatori Hiroaki, Suto Akira, Suzuki Kotaro, Hirose Koichi, Yamaguchi Noritaka, Honda Hiroaki, Nakajima Hiroshi	4. 巻 629
2. 論文標題 A20 (Tnfaip3) expressed in CD4+ T cells suppresses Th2 cell-mediated allergic airway inflammation in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 47 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.08.097	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 西村 望, 横田 雅也, 伊藤 崇, 策 愛子, 廣瀬 晃一, 中島 裕史
2. 発表標題 チリダニ抗原 (HDM) 誘導性アレルギー性気道炎症における気道上皮STAT3の役割
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nozomi Nishimura, Masaya Yokota, Takashi Ito, Aiko Saku, Koichi Hirose, Hiroshi Nakajima
2. 発表標題 Role of airway epithelial STAT3 in house dust mite-induced allergic airway inflammation
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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
研究 分担者	田中 繁  (Tanaka Shigeru)  (30822051)	千葉大学・医学部附属病院・助教   (12501)	
研究 分担者	岩田 有史  (Iwata Arifumi)  (90436353)	千葉大学・大学院医学研究院・助教   (12501)	

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