

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09693

研究課題名(和文) IL-33発現抑制によるアレルギー性鼻炎の好酸球性炎症の抑制：ダニ動物モデル研究

研究課題名(英文) Effect of IL-33 Gene Expression suppression on allergic rhinitis

研究代表者

北村 嘉章 (KITAMURA, Yoshiaki)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授

研究者番号：60380028

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)：アレルギー性鼻炎は国民の約1/2が罹患する国民病であり、鼻症状で最も難治の鼻閉はアレルギー性炎症の遅発相における好酸球性炎症の関与が大きいことが知られている。我々は、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜のIL-33遺伝子発現の亢進が末梢血好酸球数の増加と相関することを明らかにし、好酸球性炎症に対するIL-33遺伝子発現亢進の関与が示唆された。蛋白キナーゼCシグナル抑制薬によりIL-33遺伝子発現亢進が抑制されることが明らかになったことから、蛋白キナーゼCシグナル抑制薬は鼻粘膜のIL-33遺伝子発現亢進を抑制し、鼻粘膜の好酸球性炎症を抑制することでアレルギー性鼻症状を抑制する効果が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性鼻炎は国民の約1/2が罹患する国民病であり、鼻症状で最も難治の鼻閉は好酸球性炎症の関与が大きい。治療抵抗性の鼻閉を改善するためには、アレルギー性鼻炎における鼻粘膜の好酸球性炎症の病態の解明とその治療法の開発が必要である。我々はアレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜のIL-33遺伝子発現の亢進が末梢血好酸球数の増加と相関することを明らかにし、蛋白キナーゼCシグナル抑制薬によりIL-33遺伝子発現亢進を抑制できることを明らかにしたことから、蛋白キナーゼCシグナル抑制薬は鼻粘膜のIL-33遺伝子発現の亢進を抑制し、好酸球性炎症を抑制することでアレルギー性鼻症状を抑制する効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：Allergic rhinitis affects approximately 50% of the Japanese population. The important role of eosinophils for late phase reaction of allergic rhinitis has been reported. Leukotrienes released from eosinophils cause nasal mucosal swelling, observed in a late phase. Previously, we demonstrated that the expression level of IL-33 mRNA was correlated with the blood eosinophils number in patients with pollinosis. We found d PMA induced IL-33 gene upregulation and the effect of inhibitor of protein kinase C and heat shock protein 90 on the PMA-induced up-regulation of IL-33 gene expression in Swiss 3T3 cells. We then used house dust mite antigen induced mouse models of allergic rhinitis. Intranasal sensitization and chronic mite antigen challenge caused nasal symptoms and eosinophilic inflammation. These findings suggest that they could alleviate eosinophilic inflammation through the suppression of IL-33 gene expression.

研究分野：アレルギー

キーワード：アレルギー性鼻炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎は国民の約 1/3 が罹患する国民病であり、その有病率は今も増加している。抗ヒスタミン薬を中心とした薬物療法は水様性鼻漏やくしゃみには効果を認めるものの、患者が最も苦痛を訴える鼻閉症状への効果が乏しい。我々の以前の検討でも、スギ花粉症患者に対して抗ヒスタミン薬を用いた初期療法を行うと、水様性鼻漏とくしゃみ、さらに鼻粘膜のヒスタミン H1 受容体遺伝子発現の亢進は有意に抑制された(Mizuguchi H: Meth Find Exp Clin Pharmacol, 2010)。しかし、鼻閉や鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現亢進の抑制効果は認めなかった(Kitamura Y: Acta Otolaryngol, 2012)。

鼻閉はアレルギー性炎症の遅発相における好酸球性炎症の関与が大きいことが知られており、治療抵抗性の鼻閉を改善するためには、アレルギー性鼻炎における鼻粘膜の好酸球性炎症の病態の解明とその治療法の開発が必要である。我々は、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進が末梢血好酸球数の増加と相関することを明らかにしてきた。またブタクサ花粉症モデルマウスでの研究では、IL-33 ノックアウトマウスでブタクサ花粉刺激による血中好酸球数の上昇が有意に抑制され、IL-33 の補充で血中好酸球数の上昇が再現されることが報告されている (Haenuki Y: J Allergy Clinical Immunol 2012)。さらにスギ花粉症患者の鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現が亢進していることも報告もされている。

以上のことから、アレルギー性鼻炎の鼻粘膜の好酸球性炎症には、鼻粘膜における IL-33 遺伝子発現の亢進が関与していることが示唆される。そこで我々は鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現亢進を抑制することで、鼻粘膜の好酸球性炎症が抑制され、アレルギー性鼻炎症状が抑制されるとの作業仮説を立てた。

2. 研究の目的

IL-33 遺伝子発現の亢進には、蛋白キナーゼ C δ シグナルの活性化が重要であることを明らかにし、蛋白キナーゼ C δ 抑制薬や蛋白キナーゼ C δ の活性化に必要なヒートショック蛋白 90 の抑制薬により、IL-33 遺伝子発現の亢進が抑制されることを明らかにする。さらにダニ抗原アレルギー性鼻炎動物モデルを用いて、蛋白キナーゼ C δ 抑制薬やヒートショック蛋白 90 の抑制薬により鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進を抑制することで、鼻粘膜の好酸球性炎症が抑制され、アレルギー性鼻炎症状が抑制されることを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

Swiss 3T3 細胞をホルボールエステル刺激することで IL-33 遺伝子発現が亢進するか検討し、蛋白キナーゼ C δ の活性化が IL-33 遺伝子発現の亢進に重要であることを明らかにする。さらに我々が明らかにした漢方薬の苦参の有効成分 Maackiain やフラボノイドの一種である Quercetin を蛋白キナーゼ C δ 抑制薬として用いる。また我々が同定した蛋白キナーゼ C δ の活性化に必要な HSP90 の抑制薬を用いる。さらに蛋白キナーゼ C δ 抑制薬や HSP90 の抑制薬を *in vivo* のダニ抗原アレルギー性鼻炎動物モデルに用いて、鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進の抑制や好酸球性炎症、そして鼻アレルギー症状への抑制を検討する。

4. 研究成果

Swiss 3T3 細胞を用いてホルボールエステル刺激することで IL-33 遺伝子発現が亢進し、IL-33 遺伝子発現の亢進には蛋白キナーゼ C δ シグナルの活性化が重要であることが明らかとなった。さらに蛋白キナーゼ C δ の活性化にはヒートショック蛋白 90 が必要であることも明らかになった。

た。そして蛋白キナーゼ C δ シグナル抑制薬として漢方薬の苦参の有効成分である Maackiain とフラボノイドの一種である Quercetin を同定し、これらの薬剤とヒートショック蛋白 90 抑制薬により IL-33 遺伝子発現亢進が濃度依存的に有意に抑制されることを明らかにした。

次に我々が見出した蛋白キナーゼ C δ シグナル抑制薬を用いて IL-33 遺伝子発現亢進を抑制することで、鼻粘膜の好酸球性炎症が抑制され、アレルギー性鼻炎症状が抑制されるかどうかを検討するためにダニ抗原アレルギー性鼻炎モデル動物を作成した。鼻粘膜の好酸球浸潤を組織学的に確認するため、ダニ抗原を点鼻感作、誘発するダニ抗原アレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻副鼻腔全体の切片を作成し鼻粘膜の好酸球浸潤が確認できた。しかし LPS を除去したダニ抗原では鼻粘膜への好酸球浸潤が少数であり、LPS を除去しないダニ抗原モデルでは好酸球浸潤が多くみられることが明らかになった。さらにダニ抗原アレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻アレルギー症状と鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進を認めた。上記の成果から、蛋白キナーゼ C δ シグナル抑制薬は、鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進を抑制し、鼻粘膜の好酸球性炎症を抑制することでアレルギー性鼻炎症状を抑制する効果が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 1件）

1. 著者名 Nakano S, Yamamoto S, Esu T, Naniwa S, Konishi Y, Wakugawa T, Kitamura Y, Fujii T, Kamimura S, Fukui H, Takeda N, Mizuguchi H.	4. 巻 1
2. 論文標題 Effects of Syo-seiryu-to and Its Constituent Crude Drugs on Phorbol Ester-Induced Up-Regulation of IL-33 and Histamine H1 Receptor mRNAs in Swiss 3T3 and HeLa Cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergies	6. 最初と最後の頁 163-175
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 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 Kamimura S, Kitamura Y, Fujii T, Okamoto K, Sanada N, Okajima N, Wakugawa T, Fukui H, Mizuguchi H, Takeda N.	4. 巻 6
2. 論文標題 Effects of narrow-band UVB on nasal symptom and upregulation of histamine H1 receptor mRNA in allergic rhinitis model rats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Laryngoscope Investig Otolaryngol.	6. 最初と最後の頁 34-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/lio2.518	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 Kitamura Yoshiaki, Kamimura Seiichiro, Fujii Tatsuya, Mizuguchi Hiroyuki, Naito Keisuke, Kondo Eiji, Matsuda Kazunori, Azuma Takahiro, Sato Go, Fukui Hiroyuki, Takeda Noriaki	4. 巻 67
2. 論文標題 Effects of corticosteroid on mRNA levels of histamine H1 receptor in nasal mucosa of healthy participants and HeLa cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 311～314
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2152/jmi.67.311	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 Nakano Tomohiro, Ikeda Mitsuhiro, Wakugawa Tomoharu, Kashiwada Yoshiki, Kaminuma Osamu, Kitamura Noriko, Yabumoto Masam, Fujino Hiromichi, Kitamura Yoshiaki, Fukui Hiroyuki, Takeda Noriaki, Mizuguchi Hiroyuki	4. 巻 67
2. 論文標題 Identification of pyrogallol from Awa-tea as an anti-allergic compound that suppresses nasal symptoms and IL-9 gene expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Medical Investigation	6. 最初と最後の頁 289～297
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2152/jmi.67.289	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 北村嘉章、神村盛一郎、藤井達也、水口 博之、福井 裕行、武田憲昭
2. 発表標題 抗ヒスタミン薬のインバースアゴニスト作用と ヒスタミンH1受容体遺伝子発現抑制効果の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村嘉章
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎診療の最近の進歩
3. 学会等名 日本アレルギー学会中国・四国地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiaki Kitamura, Hiroyuki Mizuguchi, Hiroyuki Fukui, Noriaki Takeda
2. 発表標題 PUF60, a possible drug discovery target for the therapy of pollinosis, seasonal allergic rhinitis by suppressing NFAT signaling
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北村嘉章、神村盛一郎、中野誠一、水口 博之、福井 裕行、武田憲昭
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎のヒスタミンH1受容体遺伝子発現亢進機構に対するステロイドの抑制効果の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2020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	武田 憲昭 (TAKEDA Noriaki) (30206982)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授 (16101)	
研究分担者	水口 博之 (MIZUGUCHI Hiroyuki) (40247838)	大阪大谷大学・薬学部・教授 (34414)	
研究分担者	福井 裕行 (FUKUI Hiroyuki) (90112052)	大阪大谷大学・薬学部・研究員 (34414)	
研究分担者	神村 盛一郎 (KAMIMURA Seiichiro) (90867194)	徳島大学・病院・助教 (16101)	

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