

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 18 日現在

機関番号：34519

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659187

研究課題名（和文）上皮細胞を起点にしたアレルギー性鼻炎発症機序の解明

研究課題名（英文）Analysis of the pathogenesis of allergic rhinitis originated by epithelial cells

研究代表者

善本 知広 (YOSHIMOTO TOMOHIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60241171

研究成果の概要（和文）：

アレルギー性鼻炎には、アトピー素因を持つ人だけでなく、アトピー素因のないヒトでも花粉の飛散時期にしばしばアレルギー性鼻炎を発症する。二つのタイプに分け、それぞれを“アトピー型アレルギー性鼻炎”、“突然発症型アレルギー性鼻炎”と名付けた。本研究では、上記二種類のブタクサ花粉特異的アレルギー性鼻炎モデルマウスを樹立し、その発症機序を解析した。その結果、花粉粒子刺激によって鼻粘膜上皮細胞から放出された IL-33 と Fc $\epsilon$ R1 陽性細胞（好塩基球とマスト細胞）が花粉特異的アレルギー性鼻炎の発症に重要な役割を演じていることを明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

Allergic rhinitis often develop even in people without atopic disposition during pollen season as well as people with a predisposition to atopy. Divided into two types, it was named "atopic allergic rhinitis" and "sudden-onset allergic rhinitis", respectively. In this study, we established above two types of mouse model of ragweed pollen-specific allergic rhinitis, and analyzed the mechanism of its onset. As a result, we revealed that both pollen grains-derived IL-33 from nasal mucosa epithelial cells and the Fc $\epsilon$ R1 positive cells (mast cells and basophils) play an important role in the pathogenesis of pollen-specific allergic rhinitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
総計	2,800,000	390,000	3,190,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、膠原病・アレルギー内科学

キーワード：上皮細胞・鼻炎・アレルギー・サイトカイン・好塩基球

## 1. 研究開始当初の背景

アトピー型鼻炎の発症に対して、アトピー素因のないヒトでも花粉の飛散時期にしばしばアレルギー性鼻炎を発症する。しかし、その発症メカニズムも治療法も確立しておらず、患者数は年々増加している。花粉成分はアレルゲンを有するだけでなく、酵素活性、システインプロテアーゼ活性等のアジュバント成分を有するが、花粉によるアレルギー発症機序は未だ不明である。申請者はこれまで、マウス結膜上皮細胞にはIL-18/IL-33が蓄えられており、ブタクサ花粉(RW pollen; RW)で刺激するとIL-18/IL-33を産生することを確認している。IL-18/IL-33は共にアレルゲンとIgE抗体の架橋なしに好塩基球を刺激してTh2サイトカインを産生し、自然型アレルギーを誘導する (Yoshimoto,PNAS,1999; Yoshimoto,Int.Immunol,2008)。更に、粘膜上皮細胞にはIL-18/IL-33と同様、アレルギー誘導サイトカインであるTSLPやIL-25が様々な刺激によって誘導される事が報告されている。申請者は2009年、好塩基球は抗原提示細胞として抗原をナイーブT細胞に提示すると共に、自らIL-4を産生することで、T細胞を特異的にTh2細胞に分化させるアレルギー誘導細胞である事を明らかにした (Yoshimoto, Nat.Immunol,2009)。以上の結果を基盤に、申請者は以下の様な仮説を立てた。即ち、アレルゲンは上皮細胞を刺激してpro-allergic-cytokine (IL-18,IL-33,IL-25,TSLP)を産生し、これらサイトカインで刺激された好塩基球はIL-4を産生すると共に、ナイーブT細胞に抗原提示する結果アレルゲン特異的Th2細胞を誘導する。アレルゲン曝露によって発症するアトピー素因のない鼻炎は以上の機序で発症するのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

アレルギー性鼻炎を、アトピー素因を持つ人の鼻炎と、アトピー素因のない人がある年突然鼻炎を発症する二つのタイプに分け、それぞれを“アトピー型アレルギー性鼻炎”、“突然発症型アレルギー性鼻炎”と名付けた。本研究では、上記二種類のアレルギー性鼻炎モデルマウスを作製し、(1)花粉の曝露による鼻粘膜上皮細胞からのIL-33産生と、(2)鼻粘膜好塩基球に起点をおいアレルギー性鼻炎の発症機序を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) アレルギー性鼻炎モデルマウスの作製  
アトピー型アレルギー性鼻炎モデルマウス：正常BALB/cマウスにブタクサ花粉粒子(ragweed pollen; RW)を水酸化アルミニウムと共に正常マウスにday0とday7に計2回免疫し、day14からRW(1mg/20 $\mu$ l)または

PBS(20 $\mu$ l)を4日間点鼻した。  
突然発症型アレルギー性鼻炎モデルマウス：正常BALB/cマウスにRW(1mg/20 $\mu$ l)またはPBS(20 $\mu$ l)を1回/1日、awakeの状態得14日間連続点鼻した。

(2) アレルギー性鼻炎のモニタリング  
点鼻後10分間のくしゃみ回数を測定する。最終点鼻24時間後にマウスを安楽死させ、①頭部をホルマリン固定後、脱灰し、染色後、鼻粘膜組織の好酸球数、好塩基球数、②頸部リンパ節細胞を抗原提示細胞とブタクサ抽出抗原と共に培養し、上清中のTh2サイトカイン産生量、③血清ブタクサ抗原特異的IgE抗体産生を測定する。

## 4. 研究成果

(1) アトピー型アレルギー性鼻炎モデルマウスの樹立

正常BALB/cマウスにブタクサ花粉粒子(ragweed pollen; RW)を水酸化アルミニウムと共に正常マウスに2回免疫し、RWを4日間点鼻することで、①点鼻後10分間に頻回にくしゃみを発症し(即時相)、②最終点鼻24時間後に鼻粘膜に著明な好酸球浸潤、上皮の多列化とムチン産生亢進を伴った(後期相)ヒトのアトピー型アレルギー性鼻炎の病態を反映するRW特異的アレルギー性鼻炎モデルマウスを樹立した。更に、本アレルギー性鼻炎マウスはRW点鼻に反応して、血清中にRW特異的IgE抗体と頸部リンパ節細胞にRW特異的Th2細胞の誘導を認めた。

(2) 突然発症型アレルギー性鼻炎モデルマウスの樹立

正常BALB/cマウスをRWであらかじめ免疫することなく、RW(1mg/20 $\mu$ l)をawakeの状態得14日間連続点鼻した。その結果、上記のRW免疫マウスと同様、①点鼻後10分間に頻回にくしゃみを発症し(即時相)、②点鼻24時間後に鼻粘膜に著明な好酸球浸潤を伴い(後期相)、③RW特異的IgE抗体の上昇を認めるアレルギー性鼻炎モデルマウスを樹立した。更に、本アレルギー性鼻炎マウスはRW点鼻だけで、頸部リンパ節細胞にRW特異的Th2細胞が誘導された。

(3) アレルギー性鼻炎発症に対するIL-33の関与

アレルギー性鼻炎発症に対する上皮細胞からのIL-33の役割を検討する目的で、IL-33欠損マウスを用いてアトピー型アレルギー性鼻炎を誘導し、鼻炎発症を検討した。その結果、①IL-33欠損マウスではRW点鼻後10分間に発症する“くしゃみ”(早期相)と、②点鼻後24時間後の鼻粘膜への好酸球浸潤及び頸部リンパ節細胞のTh2サイトカイン産生(遅発相)が正常マウスに比較して著明に抑制された。更に、③好酸球浸潤と同時に鼻粘膜への好塩基球浸潤が認められ、この好塩

基球浸潤も IL-33 欠損マウスでは著明に抑制された。

(4) アレルギー性鼻炎発症に対する好塩基球の関与

アトピー型アレルギー性鼻炎発症に対する好塩基球の役割を検討する目的で、① Fc $\epsilon$ R1 欠損マウス、② 好塩基球除去マウス(マウスに抗Fc $\epsilon$ R1 抗体MAR-1 を投与) または③ W/W<sup>0</sup>マウス(マスト細胞欠損マウス)を用いて、RW感作RW点鼻による鼻炎発症を検討した。その結果、いずれのマウスにおいてもコントロールマウスに比較して、“くしゃみ”(早期相)と鼻粘膜への好酸球浸潤(遅発相)は著明に抑制された。

以上の実験結果から、RW 点鼻によって誘導された内因性 IL-33 と Fc $\epsilon$ R1 陽性細胞(好塩基球とマスト細胞)が花粉特異的アレルギー性鼻炎の発症に重要な役割を演じていることを明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 34 件)

### 欧文原著

1. Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, Fujieda S, Yasuda M, Hisa Y, Akira S, Nakanishi K, Yoshimoto T: A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. **J Allergy Clin Immunol**. 2012 in press (査読有) (DOI: 10.1016/j.jaci.2012.02.013)
2. Yasuda K, Yoshimoto T, et al. (他11人, 11番) Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, 109:3451-56, 2012 (査読有)
3. Nakanishi K, Tsutsui H, Yoshimoto T. Importance of IL-18-induced Super Th1 cells for the development of allergic inflammation. **Allergol Int**, 59:137-141, 2010 (査読有)
4. Yoshimoto T. Basophils as Th2-inducing antigen-presenting cells. **Int Immunol**, 22:543-550, 2010 (査読有)
5. Yoshikawa S, Yoshimoto T, et al. (他12人, 6番) Crucial role of impaired Kupffer cell phagocytosis on the decreased Sonazoid-enhanced echogenicity in a liver of a non-alcoholic steatohepatitis rat model. **Hepatology Research**, 40:823-831, 2010 (査読有)
6. Matsuba-Kitamura S, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Taki Y, Muto T, Ikeda T, Mimura O, Nakanishi K. Contribution of IL-33 to induction and augmentation of experimental allergic conjunctivitis. **Int Immunol**, 22:479-489, 2010 (査読有)

### 和文総説

7. 善本知広. 新しいアレルギーへの招待. 兵庫医科大学医学会雑誌. 36:27-36, 2011 (査読無)
8. 善本知広. 好塩基球によるTh2細胞誘導機序. **IgE practice in asthma**. October:2-7, 2011 (査読無)
9. 善本知広. ブタクサ花粉特異的アレルギー性結膜炎モデルマウスの作製と結膜炎に対するIL-33の病因的役割. **アレルギー** 60:16-25, 2011 (査読無)
10. 善本知広. IL-33とアレルギー. **アレルギー・免疫** 18:424-435, 2011 (査読無)
11. 善本知広. 上皮細胞由来サイトカインとアレルギー. **アレルギー・免疫** 18:486-505, 2011 (査読無)
12. 善本知広. 自然型アレルギーと獲得型アレルギー. **アレルギー・免疫** 18:483-485, 2011 (査読無)
13. 松葉沙織, 善本知広. アレルギー性結膜炎: アレルギー性結膜炎とIL-33. **アレルギー・免疫** 18:50-64, 2011 (査読無)
14. 善本知広. アレルギーを科学して, アレルギーを治す. **アレルギー・免疫** 18:317-318, 2011 (査読無)
15. 小坂久, 善本知広, 中西憲司, 藤元治朗. 腹腔内術後癒着形成におけるIFN- $\gamma$ の重要性. **炎症と免疫** 18:531-37, 2010 (査読無)
16. 善本知広. 自然免疫系細胞からのサイトカインとアレルギー. **臨床免疫・アレルギー科** 54:271-86, 2010 (査読無)
17. 善本知広. 疾患からみたサイトカイン: IL-33. **分子リウマチ治療** 3:219-24, 2010 (査読無)
18. 善本知広. サイトカインと疾患: Th2細胞分化と好塩基球. **医学のあゆみ** 234:411-8, 2010 (査読無)
19. 善本知広. サイトカインと疾患: IL-33とアレルギー性疾患. **医学のあゆみ** 234:511-7, 2010 (査読無)
20. 善本知広, 中西憲司. アレルギーとIL-18/IL-33. **実験医学** 28:167-73, 2010 (査読無)
21. 善本知広. 術後腸管癒着とサイトカイン. **実験医学** 28(増刊):207-12, 2010 (査読無)
22. 善本知広. IL-33の生理機能. **呼吸** 29:364-72, 2010 (査読無)
23. 善本知広. Super Th1細胞とアレルギー. **International Review of Asthma & COPD** 12:27-34, 2010 (査読無)
24. 善本知広. 好塩基球による抗原提示とアレルギー. **臨床免疫・アレルギー科** 53:301-11, 2010 (査読無)
25. 善本知広. 好塩基球の新たな機能-アレルギー誘導抗原提示細胞-. **医学のあゆみ**. 232:285-86, 2010 (査読無)

26. 善本知広. 好塩基球によるTh2細胞の誘導と増強. 炎症と免疫. 18:14-22, 2010(査読無)

[学会発表] (計 34 件)

#### 招待講演

1. 善本知広. アレルギー性鼻炎の新しい発症メカニズム: 花粉-IL-33-マスト細胞/好塩基球による鼻粘膜免疫機構. (招待講演) 第 32 回和漢医薬学総合研究所 特別セミナー「和漢薬治療のターゲットとしての粘膜免疫機構」 2011.12.9 金沢
2. 善本知広. アレルギー増悪機構-好塩基球の抗原提示能について-. (招待講演) 第 12 回緑尼会学術講演会 2011.11.19 尼崎
3. 善本知広. IL-33 とアレルギー. (教育講演) 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術集会 2011.11.11 東京
4. 善本知広. アレルギー増悪機構-好塩基球の抗原提示能について-. (特別講演) 第 37 回兵庫県臨床アレルギー研究会 2011.10.15 神戸
5. 善本知広. アレルギー増悪機構の基礎からの解析-好塩基球の抗原提示機能-. (特別講演) 第 29 回呼吸器・免疫シンポジウム 2011.10.1 東京
6. 善本知広. アレルギーの基礎とアレルギー研究の最前線. (基調講演) 第 152 回日本獣医学会 2011.9.20 大阪
7. 善本知広. 新しいアレルギーの概念: 好塩基球によるTh2細胞の誘導. (招待講演) 第 10 回愛知免疫アレルギーを語る会 2010.9.11 名古屋
8. 善本知広. 免疫・アレルギー疾患への挑戦: From clinic to bench and back. (招待講演) 第 5 回 NIH 東海in Japan 2010.7.16 名古屋

#### 国際学会

9. Yoshimoto T. IFN- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. (Guest Speech) The 19th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2011: Cytokines/Chemokines, Immunity, and Diseases. 2011.5.26 Osaka
10. Yasuda K, Sasaki Y, Matsumoto M, Taki Y, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* and *Strongyloides venezuelensis*. The 19th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2011: Cytokines/Chemokines, Immunity, and Diseases. 2011.5.26 Osaka
11. Matsumoto M, Yasuda K, Kubo M, Yoshimoto T, Nakanishi K. Basophils are essential for rapidly expelling *Strongyloides venezuelensis*. The 19th International Symposium on Molecular Cell Biology of

- Macrophages 2011: Cytokines/Chemokines, Immunity, and Diseases. 2011.5.26 Osaka
12. Yoshimoto T, Matsuba-Kitamura S, Nakanishi K. Role of IL-33 in experimental allergic conjunctivitis. (Symposium) Keystone Symposia. Mucosal Biology: A Fine Balance between Tolerance and Immunity. 2011.2.28 Canada
  13. Yoshimoto T, Matsuba-Kitamura S, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Matsushita K, Nakanishi K. Role of IL-33 in experimental allergic conjunctivitis. 4<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Allergology (ISMA2010) 2010.10.30 Germany
  14. Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakanishi K. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4<sup>+</sup> T cells. (Work shop) 14<sup>th</sup> International congress of Immunology 2010.8.24 Kobe
  15. Mastumoto M, Yasuda K, Kubo M, Yoshimoto T, Nakanishi K. Basophils play a pivotal role in the expression of gastrointestinal nematode *Strongyloides venezuelensis*. (Work shop) 14<sup>th</sup> International congress of Immunology 2010.8.24 Kobe
  16. Yasuda K, Sasaki Y, Kondo Y, Matsumoto M, Yoshimoto T, Nakanishi K. IL-33 mediated expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. 14<sup>th</sup> International congress of Immunology 2010.8.24 Kobe
  17. Matsuba-Kitamura S, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Taki Y, Muto T, Ikeda T, Mimura O, Nakanishi K. Contribution of IL-33 to induction and augmentation of experimental allergic conjunctivitis. 14<sup>th</sup> International congress of Immunology 2010.8.24 Kobe
  18. Takahashi S, Futatsugi-Yumikura S, Yoshimoto T, Yonehara S, Nakanishi K. A novel type of CD5-positive Ipr cells of Fas-deficient mice in Balb/c background with allergic blepharitis stimulate IgE production. 14<sup>th</sup> International congress of Immunology 2010.8.24 Kobe.
  19. Yoshimoto T. Basophils contribute to TH2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4<sup>+</sup> T cells. (Guest Speech) The 4<sup>th</sup> Surface Barrier Immunology Study Group, 2<sup>nd</sup> Meeting 2010.1.29 Tokyo

シンポジウム、ワークショップ

計 10 件

一般講演

計 5 件

〔図書〕（計 2 件）

1. Yoshimoto T., Tsutsui, H, Nakanishi K.  
Importance of Th17- and Th1-associated responses for the development of asthma. (Izuhara, K., Holgate, S. T., Wills-Karp M. eds.), In: Inflammation and Allergy Drug Design, 27-38, Blackwell Publishing Ltd, London, 2011
2. 善本知広. 感染とアレルギー：寄生虫アレルギー. 福田健 編. 総合アレルギー学, 改訂 2 版 東京: 南山堂, 2010; 628-30

〔産業財産権〕

○ 出願状況（計 1 件）

名称：アレルギー性鼻炎モデル動物, アレルギー性鼻炎治療剤のスクリーニング方法およびその利用.

発明者：善本知広

権利者：同上

種類：特許権

番号：特願 20110211159

出願年月日：2011.9.27

国内外の別：国内

○ 取得状況（計 2 件）

名称：Th1 型アレルギー疾患治療用組成物.

発明者：中西憲司, 善本知広

権利者：同上

種類：特許権

番号：特願番号:4673068 号

取得年月日：2011.1.28

国内外の別：国内

名称：Th2 型アレルギー性疾患治療薬及び感染症治療薬.

発明者：善本知広, 中西憲司, 善本隆之, 水口純一

権利者：同上

種類：特許権

番号：特願番号:4625113 号

取得年月日：2011.9.16

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

善本 知広 (YOSHIMOTO TOMOHIRO)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：60241171

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし