

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15957

研究課題名（和文）病原性ヘルパーT細胞を中心とした好酸球性食道炎と食道アカラシアの病態解明

研究課題名（英文）A Study on the pathogenesis of eosinophilic esophagitis and esophageal achalasia focusing on pathogenic helper T Cells

研究代表者

金子 達哉（Kaneko, Tatsuya）

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90867003

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：申請者は既報のモデルを改良し好酸球性炎症に伴い高度の食道線維化をきたすマウスモデルを確立した。Flow Cytometryや免疫染色等を用い、同モデルの食道において病原性ヘルパーT細胞が増加すること、食道内の病原性ヘルパーT細胞がAmphiregulinを高産生すること、Amphiregulin欠損により食道の線維化が抑制されることなどを明らかにした。さらにヒト好酸球性食道炎症例の食道生検検体においてもAmphiregulin産生病原性ヘルパーT細胞が増加し、食道線維化の程度と相関することを確認した。それらの結果から、病原性ヘルパーT細胞が食道線維化に重要な役割を果たすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果より、病原性ヘルパーT細胞が好酸球性食道炎に伴う食道線維化の予防・治療に関する標的となり得ることが示唆された。また、治療により臨床的/組織学的寛解に至った好酸球性食道炎の症例においても組織中には病原性ヘルパーT細胞が残存することを確認しており、病原性ヘルパーT細胞は炎症再燃や組織線維化を予測する新たなmarkerとなる可能性がある。さらに、本マウスモデルにおいて食道筋層間に存在する神経叢細胞が減少すること、好酸球は筋層を含めた食道全層に分布することを確認しており、今後の追加実験により食道アカラシア発症と好酸球性炎症の関連について新しい知見が得られることも期待される。

研究成果の概要（英文）：We established a mouse model that exhibits severe esophageal fibrosis associated with eosinophilic inflammation. Using flow cytometry and immunostaining, we revealed that pathogenic helper T cells increased in the esophagus of this model. We also discovered that these pathogenic helper T cells in the esophagus produced high levels of amphiregulin and that esophageal fibrosis was suppressed in amphiregulin-deficient mice. Furthermore, in esophageal biopsy samples from patients with eosinophilic esophagitis, an increase in amphiregulin-producing pathogenic helper T cells was observed, which correlated with the degree of esophageal fibrosis. These results demonstrate that pathogenic helper T cells play a crucial role in the esophageal fibrosis of eosinophilic esophagitis.

研究分野：消化器学

キーワード：病原性ヘルパーT細胞 好酸球性食道炎 食道アカラシア Amphiregulin

1. 研究開始当初の背景

好酸球性食道炎(EoE)は、食道のつかえ感等の症状および好酸球の食道粘膜浸潤をきたす疾患であり、長期経過により粘膜下の線維化/狭窄を呈する。また、EoEは食道アカラシアを含む食道運動障害の原因となる可能性が示唆されている。しかしながら、EoEにおける食道線維化の機序および食道運動障害をきたす機序は未だ明らかになっていない。近年、同様に慢性好酸球性炎症をきたす喘息において Amphiregulin 産生病原性ヘルパーT細胞と呼ばれる細胞集団が喘息の気道線維化に関与することが報告され、好酸球性食道炎および食道アカラシアの病態にも同様に関与することが想起された。

2. 研究の目的

本研究では、(1)好酸球性食道炎の線維化の機序に病原性ヘルパーT細胞が中心的な役割を果たす、(2)好酸球性食道炎では食道神経叢が炎症性に障害され食道アカラシアの発症に関与する、という二つの仮説を検証する。それにより、好酸球性食道炎における病原性ヘルパーT細胞の役割を中心として、好酸球性食道炎や食道アカラシアの病態の解明し、新規治療の開発に結びつけることを目的とした。

3. 研究の方法

長期間のダニ抗原感作により食道に線維化を伴う EoE マウスモデルを作成した。本マウスモデルについて、フローサイトメトリーおよび組織学的分析により、食道内の病原性ヘルパーT細胞および食道線維化の評価を行った。また、シングルセル RNA 解析、フローサイトメトリーおよび免疫染色を使用して、好酸球性食道炎症例および食道アカラシア症例の食道生検検体を解析した。

4. 研究成果

(1) EoE の線維化の機序における病原性ヘルパーT細胞の役割を検証する

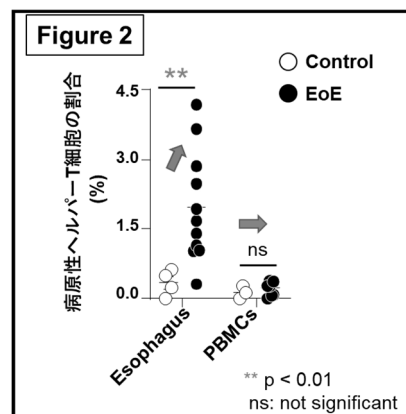
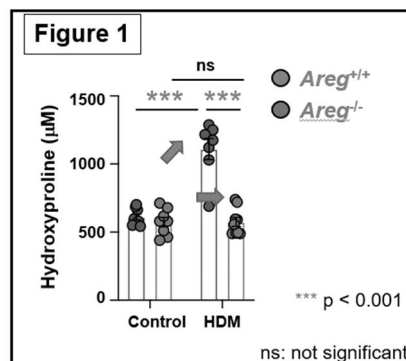
まず免疫染色を用いて、ヒト EoE 症例の食道生検検体について評価した。既知の通り、EoE 症例の食道においては線維化が亢進していたが、同領域においては CD4 陽性 T 細胞が多数浸潤していることが明らかとなった。その結果を念頭に、Flowcytometry を用いて、EoE マウスモデルの食道の CD4 陽性 T 細胞の評価を行うと、IL-33 受容体(ST2)をもつ病原性ヘルパーT細胞が増加すること、それらの細胞集団が IL-5 のみならず、Amphiregulin を高産生していることが明らかとなった。

Amphiregulin が食道線維化に与える影響を評価するため、Amphiregulin 欠損マウスに対してダニ抗原の長期感作を行った。ダニ抗原感作後の食道全体のコラーゲン含有量を評価する Hydroxyproline 定量検査を行うと、野生型マウス (Areg^{+/+}) では食道中の Hydroxyproline の量が有意に増加したのに対し、Amphiregulin 欠損マウス (Areg^{-/-}) においては Hydroxyproline の増加が明らかに抑制された (Figure 1)。

次いで、病原性ヘルパーT細胞由来の Amphiregulin が食道線維化に関与することを確認するため、Amphiregulin 欠損マウスに対して野生型 (Areg^{+/+}) CD4T 細胞を移入した後にダニ抗原感作を行うと、Amphiregulin 欠損マウス由来 (Areg^{-/-}) の CD4T 細胞を移入した群と比して、食道線維化が有意に増悪した。これらの結果より本マウスモデルにおいて病原性ヘルパーT細胞由来の Amphiregulin が食道線維化に関与することが示唆された。

さらに、Single-cell RNA 解析や Flow Cytometry、免疫染色を用いて、ヒト好酸球性食道炎症例の食道生検検体においても Amphiregulin 産生病原性ヘルパーT細胞が増加すること (Figure 2)、それらの存在が食道線維化と相関することを確認した。

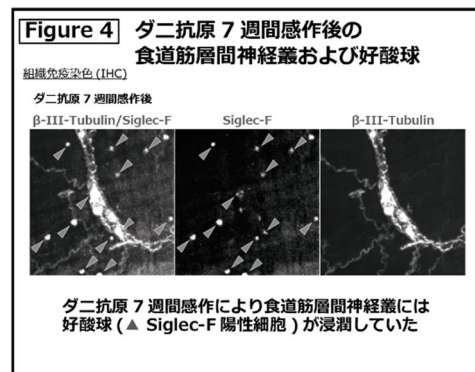
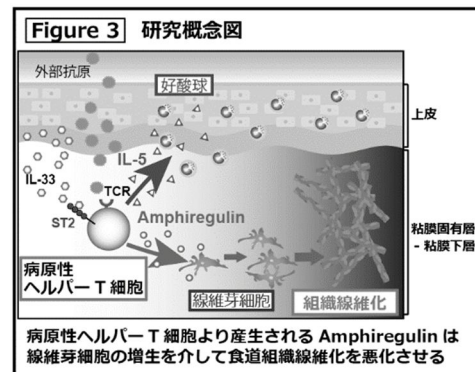
以上の結果より、病原性ヘルパーT細胞に由来する Amphiregulin がヒト好酸球性食道炎における食道線維化に重要な役割を果たすことを明らかにした ((Kaneko T et al. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global*, in press : Figure 3))



(2)好酸球性炎症による食道神経叢の障害について検証する

EoE マウスモデルについて免疫染色を施行すると、食道壁内の神経叢の数および神経細胞数に減少が見られ、同モデルでは神経叢の近傍に好酸球の浸潤が見られた (Figure 4)。またヒトアカシア症例について、内視鏡的筋層切開術時採取した筋層生検検体を病理学的に評価すると一部の症例において筋層間に好酸球浸潤が確認された。

本検討ではマウスモデルを用いて好酸球性食道炎の線維化に Amphiregulin が重要であることを示し、ヒト臨床検体においても食道組織中に Amphiregulin 産生病源性ヘルパーT細胞が存在することを確認した。寛解期の EoE 症例において、病源性ヘルパーT細胞は Amphiregulin を産生しない非活性化型として存在していることが示唆され、再度の刺激により活性化し EoE の再発に関与する可能性がある。また、EoE マウスモデルにおいて食道中の神経細胞が減少することは食道運動障害の発症メカニズムの足がかりとなり得るが、ヒト臨床検体に関する検討を含め、今後より詳細な検証が必要である。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Tatsuya Kaneko, Chiaki Iwamura, Kiyoshi Hirahara
2 . 発表標題 Amphiregulin-producing Tpath2 cells have critical role in esophageal fibrosis of Eosinophilic Esophagitis
3 . 学会等名 Japan Digestive Disease Week 2023
4 . 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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