

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591463

研究課題名(和文)好酸球前駆細胞ステージ特異的IL-25レセプター発現の意義の解明

研究課題名(英文)The role of IL-25 receptor expressed on eosinophil lineage-committed progenitor

研究代表者

有信 洋二郎 (ARINOBU, YOJIRO)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：90467928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：最近我々は、epithelial cell-derived cytokineに属するIL-25、IL-33の受容体を、好酸球前駆細胞が発現していることを見だし、その役割の解明を目指した。IL-33の刺激を受けた好酸球前駆細胞は、Th2及びpro-inflammatory cytokineを産生し、好酸球分化における前駆細胞としてのみでなく、アレルギー性炎症におけるeffector細胞としても機能し得る可能性が示された。一方、IL-25及びIL-33をin vivo投与したマウスでは、いずれも好酸球系細胞特異的な増大を認め、両サイトカインは好酸球造血における重要な調整因子であると思われた。

研究成果の概要(英文)：Recently, we revealed that eosinophil lineage-committed progenitor (EoP) express both receptors for IL-25 and IL-33, which are members of epithelial cell-derived cytokines, but the role of these receptors remain unknown. IL-33 stimulated EoP produced Th2 and pro-inflammatory cytokines, such as IL-4, 6, 13, suggesting that IL-33-stimulated EoP may serve not only as progenitor cell in eosinophil development but also as effector cell in allergic inflammation. Intraperitoneal administration of IL-25 and IL-33 induced the exclusive expansion of EoP and mature eosinophils, suggesting that both cytokines should be critical regulators in eosinophil hematopoiesis.

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：IL-25 IL-33 好酸球前駆細胞

1. 研究開始当初の背景

近年、アレルギー性炎症の新たな惹起因子として Epithelial cell-derived cytokine (TSLP, IL-25, IL-33) が注目されている。このサイトカイン群は、主に抗原や微生物刺激を受けた上皮細胞から産生され、アレルギー性炎症を起動すると考えられている。IL-25 受容体を発現し IL-25 に反応する細胞は長い間不明であったが、近年、Innate lymphoid cell (ILC) 2 が IL-25 刺激に反応する細胞であると報告された。同時に ILC2 は、もう一つの Epithelial cell-derived cytokine である IL-33 にも反応すると報告され、注目されている。

我々もマウス骨髄中細胞を網羅的に解析し、好酸球前駆細胞 (Eosinophil progenitor; EoP) が、IL-25 受容体を発現する唯一の骨髄中細胞であることを報告してきた。また ILC2 と同様に EoP も、IL-33 受容体を発現していることを新たに見いだした。IL-25, IL-33 の EoP に対する作用は未だに明らかになっておらず、この解明を目指した。

2. 研究の目的

好酸球前駆細胞における IL-25 及び IL-33 受容体発現の意義の解明

3. 研究の方法

- (1) マウス EoP を単離し、in vitro での IL-25 の生物活性を明らかにする。
- (2) マウスに IL-25 を in vivo 投与し、好酸球造血に与える影響を検討する。
- (3) マウス EoP を in vivo にて IL-25 刺激し、遺伝子発現の変化を網羅的に解析する。
- (4) マウス骨髄細胞における IL-33 受容体の発現を解析する。
- (5) マウス EoP を単離し、in vitro での IL-33 の生物活性を明らかにする。
- (6) マウスに IL-33 を in vivo 投与し、好酸球造血に与える影響を検討する。

4. 研究成果

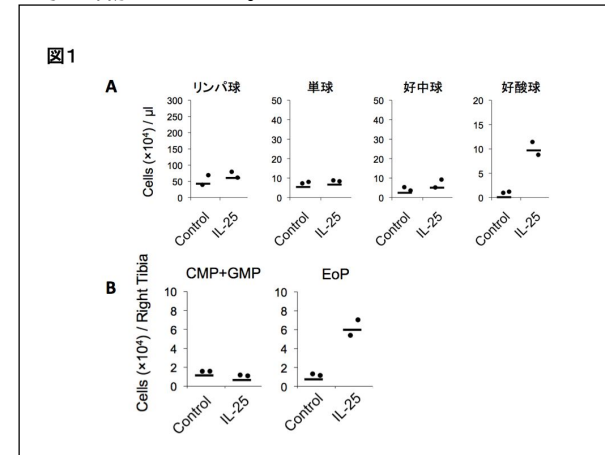
(1) in vitro で EoP を IL-25 刺激したが、明らかな変化を認めなかった

マウス EoP を骨髄細胞から単離し、IL-25 刺激を行った。IL-25 刺激にて IL-13mRNA の発現増強を認めたが、蛋白レベル (Intracellular staining) では、産生増強の確認ができなかった。また、IL-25 刺激にて EoP の増殖や生存は亢進せず、EoP での PCNA, Bcl-2, Bcl-XLmRNA の発現も変化しなかった。In vitro での IL-25 の EoP に対する作用として、サイトカイン産生、生存・増殖に関係するものは明らかにできなかった。

(2) IL-25 の腹腔内投与にて、EoP-好酸球系の特異的な増大を認めた

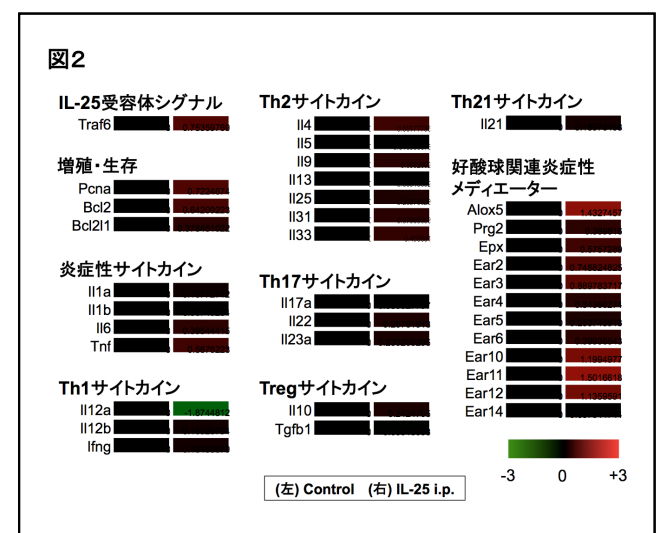
IL-25 の in vitro での作用が明らかでな

かった為、IL-25 の in vivo 投与を試みた。IL-25 2 μ g/body を 4 日間腹腔内投与し、好酸球造血に与える影響を 5 日目に解析した。IL-25 の腹腔内投与により、末梢血の好酸球は著明に増加していた (図 1A)。この好酸球増多は、EoP の増加を伴っているも、その上流の骨髄球系共通前駆細胞 (Common myeloid progenitor ; CMP)、顆粒球/単球系前駆細胞 (Granulocyte/monocyte progenitor; GMP) に変化は認めず (図 1B)、好酸球系統に特異的な増加であった。



(3) IL-25 腹腔内投与マウス由来 EoP の遺伝子発現の変化

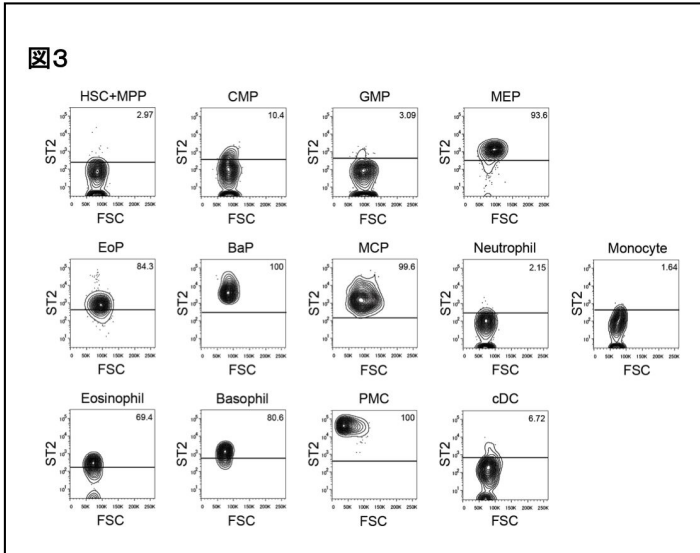
IL-25 腹腔内投与前後での EoP の遺伝子発現の変化をマイクロアレイにて検討した (図 2)。IL-25 投与にて、IL-25 受容体関連のシグナル伝達分子 (TRAF6) やその下流の分子、増殖・生存関連分子 (PCNA, Bcl-2)、好酸球関連分子 (Alox5, Ears) などの発現に変化を認めた。IL-25 は、直接的/間接的に EoP に作用している可能性が考えられた。



(4) IL-33 受容体を発現する骨髄球系前駆細胞群の同定

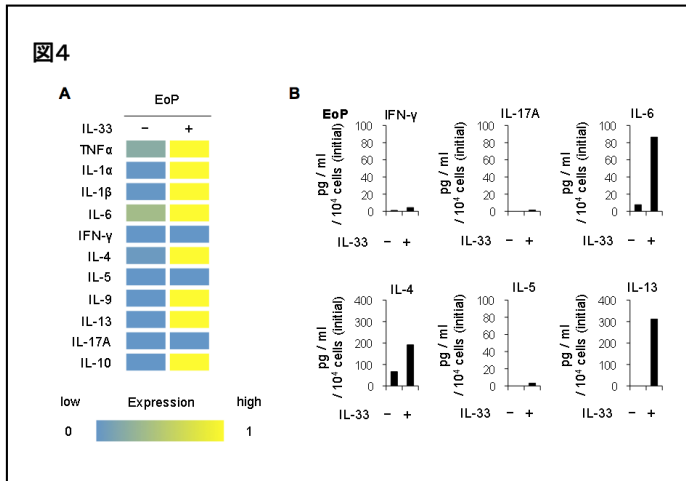
EoP は、同じ Epithelial cell-derived cytokine 群に属する IL-33 受容体 (ST2) も発

現していることを、我々は新たに見出した(図3)。また、EoPのみでなく、好塩基球前駆細胞(Basophil progenitor; BaP)、肥満細胞前駆細胞(Mast cell progenitor; MCP)といったアレルギー性炎症におけるその他のエフェクター細胞の系統特異的前駆細胞もIL-33受容体を発現していた(図3)。



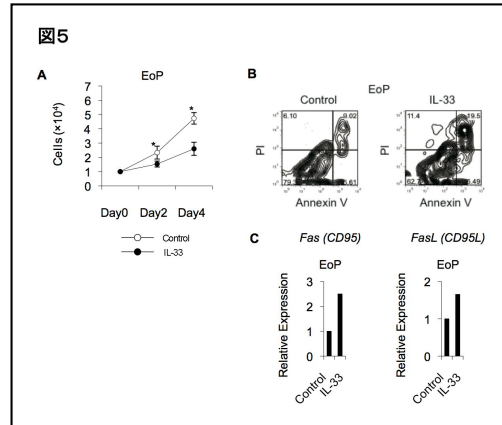
(5) IL-33にて刺激したEoPは、Th2 cytokine 及び pro-inflammatory cytokine を産生した

マウスEoPに発現するIL-33受容体の役割を明らかにする為、骨髓細胞から単離したEoPをIL-33刺激し、各種サイトカインのmRNA、及び上清中のサイトカイン濃度(図4B)を測定した。IL-33刺激によりIL-4, IL-9, IL-13といったTh2サイトカイン、TNF α , IL-1 β , IL-6といったpro-inflammatory cytokine mRNAの上昇を認めた(図4A)。上清中のサイトカイン濃度の上昇も、幾つかのサイトカインにて確認できた(図4B)。EoPは、前駆細胞としてのみでなく、エフェクター細胞としても機能する可能性が考えられた。



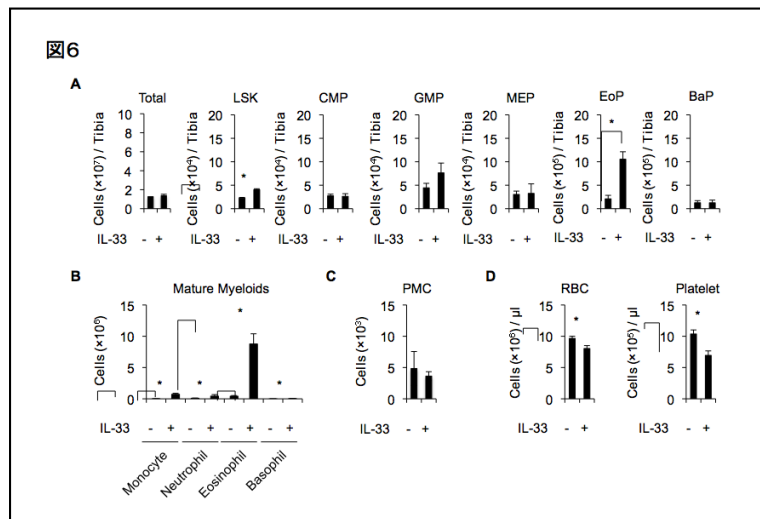
(6) IL-33刺激を受けたEoPは、増殖せず、むしろ細胞死へと向かった。

IL-33刺激がマウスEoPの増殖・生存に与える影響に関して検討した。IL-33刺激を受けたEoPは、無刺激のEoPに比較し増殖が抑制され(図5A)細胞死が亢進していた(図5B)。IL-33刺激を受けたEoPでは、FasやFasLの発現が亢進しており(図5C)、IL-33によるアポトーシス誘導により細胞死が誘導されている可能性が考えられた。



(7) IL-33の腹腔内投与にてもIL-25投与と同様に、EoP-好酸球系の特異的な増大を認めた

IL-25と同様に、IL-33がin vivoで好酸球造血に与える影響を検討した。IL-33を腹腔内投与すると、IL-25と同様にEoP及びその下流の好酸球の著明な増多を認めた。この増多はCMP, GMPには認めず、好酸球系統に特異的な変化であった(図6)。



(8) 終わりに

今回我々は、IL-25受容体及びIL-33受容体を共発現するEoPの機能について解析した。IL-25のin vitroにおける作用は明らか

にならなかったが、in vivo では IL-25 は EoP stage からの好酸球増多を誘導した。マイクロアレイ解析では、in vivo IL-25 刺激を受けた EoP において様々な遺伝子発現の変化を認めており、IL-25 が直接的 / 間接的に EoP に作用している可能性が示唆された。

一方 IL-33 は、これ自体に EoP からのサイトカイン産生誘導能があり、EoP はエフェクター細胞としても機能する可能性がある。

IL-25, IL-33 はともに、EoP stage からの好酸球系細胞の増多を誘導しており、好酸球系炎症の重要な調節因子であると思われる。

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 8 件)

Ueda N, Tsukamoto H, Mitoma H, Ayano M, Tanaka A, Ohta S, Inoue Y, Arinobu Y, Niiro H, Akashi K, Horiuchi T. The cytotoxic effects of certolizumab pegol and golimumab mediated by transmembrane tumor necrosis factor α . **Inflamm Bowel Dis.** 査読有 19: 1224-1231, 2013

有信 洋二郎、上田 尚靖、堀内 孝彦 関節リウマチ治療薬の使い方、使い分け -TNF 阻害剤- **PROGRESS IN MEDICINE** 査読なし 33: 49-52, 2013

Tanaka A, Tsukamoto H, Mitoma H, Kiyohara C, Ueda N, Ayano M, Ohta SI, Inoue Y, Arinobu Y, Niiro H, Horiuchi T, Akashi K. Serum progranulin levels are elevated in patients with systemic lupus erythematosus, reflecting disease activity. **Arthritis Res Ther.** 査読有 14: R244, 2012

Niiro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Kikushige Y, Shima T, Noda K, Ota S, Tsuzuki H, Inoue Y, Arinobu Y, Iwasaki H, Shimoda S, Baba E, Tsukamoto H, Horiuchi T, Taniyama T, Akashi K. C1N85 is required for Cbl-mediated regulation of antigen receptor signaling in human B cells. **Blood** 査読有 119: 2263-3372, 2012

Yamamoto T, Horiuchi T, Miyahara H, Yoshizawa S, Maehara J, Shono E, Takamura K, Machida H, Tsujioka K, Kaneko T, Uemura N, Suzawa K, Inagaki N, Umegaki N, Kasamatsu Y, Hara A, Arinobu Y, Inoue Y, Niiro H, Kashiwagai Y, Harashima SI, Tahira T, Tsukamoto H, Akashi K. Hereditary angioedema in Japan: genetic analysis of 13 unrelated cases. **Am J**

Medical Sci. 査読有 343: 210- 214, 2012

Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Mitoma H, Niiro H, Arinobu Y, Inoue Y, To K, Miyamoto T, Iwasaki H, Teshima T, Harada M, Akashi K. Analysis of immune reconstitution after autologous CD34+ stem/progenitor cell transplantation for systemic sclerosis: predominant reconstitution of Th1 CD4+ T cells. **Rheumatology.** 査読有 50: 944-952, 2011

有信 洋二郎、赤司 浩一 造血幹細胞からの骨髄球系細胞の分化 **アレルギー** 査読なし 60: 817-822, 2011

有信 洋二郎、新納 宏昭、堀内 孝彦 Aicardi-Goutieres syndrome (AGS) の遺伝子異常とその phenotype -SLE の病因にせまれるか? - **リウマチ科** 査読なし 45: 416-421, 2011

[学会発表](計 3 件)

續 啓史 好酸球前駆細胞における IL-25 受容体シグナルの役割の解明 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013 年 11 月 28 日-30 日、東京

續 啓史 IL-33 受容体を発現する骨髄球系前駆細胞の同定 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012 年 11 月 29 日-12 月 1 日、大阪

續 啓史 好酸球前駆細胞特異的な IL-25 受容体発現の意義の解明 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013 年 11 月 10 日-12 日、東京

[図書](計 1 件)

赤司 浩一他、医学書院出版、標準免疫学第 3 版 6 章 A 「造血系」2013 年 3 月 15 日発行

[その他]

ホームページ; <http://www.idenshi.co.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

有信 洋二郎 (ARINOBU YOJIRO)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号: 90467928

(2)研究分担者

赤司 浩一 (AKASHI KOICHI)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号: 80380385