

## 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 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890047

 研究課題名（和文） スギ花粉症の自然寛解機序の解明—  
形質細胞様樹状細胞の加齢による機能変化の観点から

 研究課題名（英文） Analysis of Plasmacytoid Dendritic Cells in Nasal Epithelium of  
allergic rhinitis

研究代表者

平野 真希子 (HIRANO MAKIKO)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：10611907

研究成果の概要（和文）：アレルギーが病態に関与していると思われる好酸球性副鼻腔炎患者およびコントロールとして慢性副鼻腔炎患者のポリープより細胞を抽出し、各種免疫細胞の存在率及び活性化状態を比較、検討した。好酸球性副鼻腔炎患者および感染による慢性副鼻腔炎患者のポリープ内に存在する pDC の数や活性化状態に差はみられなかったものの、好酸球性副鼻腔炎患者のポリープでは pDC の FcεR1 の発現が上昇していた。かつ最近新たに発見された Th2 サイトカインを賛成する Innate Lymphoid cell2 (ILC2) および肥満細胞の数と好酸球数が比例傾向にあり、好酸球性副鼻腔炎の病態に ILC2 や肥満細胞が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNPs) is generally characterized by local Th2 inflammation. In Japan, CRSwNPs is categorized into two subtypes: eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) that is similar to the CRSwNPs in western countries, and non-eosinophilic chronic rhinosinusitis (non-ECRS) which is characterized by Th1-dominant inflammation. I compared immune cell profiles with ECRS and non-ECRS. The number of innate immune cell 2(ILC2) increased at ECRS, it suggests that human ILC2 provides an innate source of Th2 cytokines.

交付決定額

（金額単位：円）

|         | 直接経費    | 間接経費   | 合 計     |
|---------|---------|--------|---------|
| 2011 年度 | 1200000 | 360000 | 1560000 |
| 2012 年度 | 1000000 | 300000 | 1300000 |
| 年度      |         |        |         |
| 年度      |         |        |         |
| 年度      |         |        |         |
| 総 計     | 2200000 | 660000 | 2860000 |

研究分野：医学

科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科学、鼻科学

キーワード：形質細胞様樹状細胞、アレルギー性鼻炎

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 形質細胞様樹状細胞 (pDC) は全身に

分布する希少細胞である。toll-like receptor (TLR) の 7 と 9 を発現し、ウイルス

感染時大量の1型インターフェロンと各種のサイトカインを出し、自然免疫を活性化し、獲得免疫系統も制御することによって感染防御のイニシエーターとして働く。また、pDCの成熟状態によりTh2細胞を誘導すること、アレルギー性鼻炎患者に抗原を暴露すると鼻粘膜の上皮下にpDCが集積すること、未成熟のpDC上にはTLRだけでなく高親和性IgEレセプターFcεRIも発現しており、TLR9とFcεRIの発現は相反関係にあること、アレルギー疾患患者のpDCではTLR9のagonistであるCpG-ODN刺激によるIFN産生が低下しているという報告などから、pDCがアレルギー性鼻炎の病態に関与している可能性が高いと考えられる。

(2) 一方、好酸球性副鼻腔炎とは、鼻茸内に多数のIgEと好酸球を認める特徴を有し、気管支喘息を合併していることが多い難治性副鼻腔炎である。好酸球性炎症の病因として鼻腔中に常在する真菌や細菌のスーパー抗原などが提唱されているが、特定されていない。IgE産生と肥満細胞活性化、好酸球誘導、寄生虫の感染防御に係わるIL-4、IL-5、IL-13はいままで主にTh2細胞により産生されるといわれてきた。好酸球の生産や生存維持に必須であるIL-5はTh2細胞のみならず肥満細胞や好酸球、好塩基球などにより産生される。好酸球は細胞内顆粒のカチオンタンパク質を保有し寄生虫感染防御に貢献する。しかしながら、気管支喘息や好酸球性副鼻腔炎などのアレルギー疾患において、好酸球は炎症局所に浸潤し組織傷害を惹起し炎症を増悪化させる。鼻茸局所にはIL-5やIL-13が過剰発現しており、実際抗IL-5抗体(mepolizumab)を治療に用いると重症の好酸球性副鼻腔炎患者でポリープの縮小を認める。好酸球がどのような組織で定常的に生産され生存しているのか、それらを制御するIL-5が局所でどの細胞により主に生産されるのか、好酸球性副鼻腔炎の病態を理解する上で重要と考えられる。

(3) 近年、新たなリンパ球集団として自然リンパ球Innate Lymphoid Cell(ILC)が同定され、その生理作用が脚光を浴びている。ILCとは、リンパ球の形態をもつにもかかわらず特異的抗原受容体を持たず、種々の刺激に対して迅速に反応し、Th細胞が産生する様々なサイトカイン作る細胞群である。Natural

Killer(NK)細胞もその一つであり、Th1細胞と同様IFNγを主に産生する。下にILCの一覧を示す。ILCの中で、IL-5やIL-13といったTh2サイトカインを産生するtype2ILCと呼ばれる一群がまず2001年にマウスで、2011年にはヒトで同定された。ヒト末梢血液中には0.01-0.03%しか存在せず、その他肺、腸でその存在は確認されている。そして興味深いことに、好酸球性副鼻腔炎患者のポリープ内にILC2が多く存在するという報告がなされた。

(4) ILC2はTh2細胞のように特異抗原を必要とせず、アレルギー反応の誘導因子であるIL-25やIL-33に応答し、多量のIL-5やIL-13を産生することから、好酸球性副鼻腔炎においてTh2細胞ではなく、ILC2がIL-5、IL-13の主な産生源である可能性は多いにあると考える。

<表：自然リンパ球の種類>

| Cell type         | 産生する cytokine  | 刺激する cytokine            | 対応する Th cell |
|-------------------|----------------|--------------------------|--------------|
| NK Cell           | IFN-γ          | IL-18<br>IL-12,<br>IL-15 | Th1          |
| Roryt + ILCs      | IL-17<br>IL-22 | IL-18<br>IL-23           | Th17<br>Th22 |
| Type2 ILCs (ILC2) | IL-5<br>IL-13  | IL-25<br>IL-33           | Th2          |

## 2. 研究の目的

(1) スギ花粉症患者の加齢によるpDCの機能変化を解析することでスギ花粉症の自然寛解の機序を解明し、新たな治療法開発の可能性を探ることが本研究の目標であったが、スギ花粉症患者の下甲介からの細胞分離が、細胞数が非常に少なく困難であった。

(2) そこで好酸球性副鼻腔炎患者のポリープ内にあるpDCおよびtype2自然リンパ球(ILC2)の機能、動態を解析し、好酸球性副鼻腔炎の発症とpDC, ILC2の関与を解明することが本研究の最終目標とした。

(3) ILC2はまだ発見されて間もない細胞であり、その動態および疾患との関係はまだ解明されていない。しかし、IL5を多量に産生することから、好酸球性副鼻腔炎だけでなく各種アレルギー疾患に関与していると予想され、罹患率を考えるとILC2の解明は急務である。ILC2についてのヒト検体を使用したデータはまだ海外での報告数本しかなく、そのデータは非常に貴重なものと考えるが、通常は存在率の低さ(末梢血液中に0.01-0.03%存在)からヒトILC2のCell Biologyの解明は困難が予想される。今回は鼻をターゲットとし、サンプルが容易にかつ潤沢に集められる場所であること、かつILC2の数が増えていると予想される好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸よりILC2を単離することによって機能を解析するという点で現実的であり、細胞株化することでもらなるILC2の機能の解明がしやすくなると予想される。また、ヒトで病理組織内でのILC2を解析した論文は確認した限りでは存在せず、もしも免疫組織染色によりILC2が同定できれば、ILC2の動態を知る上で新しく、重要なデータになると考えた。

### 3. 研究の方法

#### (1) 分離した細胞の細胞生物学的解析

フローサイトメトリーを用いて各サンプルの鼻茸中および末梢血中でのpDC, 好酸球、T細胞, B細胞, 肥満細胞, 好塩基球およびILC2の数と活性化状態を解析する。

#### (2) ポリープの免疫組織染色

pDCおよび各種細胞のOrientationを解析する。

#### (3) 分離した各細胞のmRNAを用いたケモカイン発現量などの分子生物学的解析

患者鼻茸、血液より分離したpDC、好酸球、ILC2からmRNAを抽出し、ケモカインなど細胞遊走にかかわる因子をMicroArrayにて解析する。

#### (4) 上記結果と疾患重症度との相関をみる

患者ごとの重症度をスコア化し、鼻茸中および末梢血中各種細胞の数との相関を調べ

る。

### 4. 研究成果

花粉症患者の下甲介粘膜より細胞の抽出を試みるも、解析に必要な量を確保できず、アレルギーが病態に関与していると思われる好酸球性副鼻腔炎患者のポリープおよびコントロールとして、感染が原因と思われる慢性副鼻腔炎患者のポリープより細胞を抽出し、各種免疫細胞の存在率及び活性化状態を比較、検討した。

まだ症例数が少なく、確かなデータとはいえないが、好酸球性副鼻腔炎患者および感染による慢性副鼻腔炎患者のポリープ内に存在するpDCの数や活性化状態に差はみられなかったものの、好酸球性副鼻腔炎患者のポリープではpDCのFcER1の発現が上昇していた。かつ最近新たに発見されたTh2サイトカインを賛成するInnate Lymphoid cell12 (ILC2) および肥満細胞の数と好酸球数が比例傾向にあり、好酸球性副鼻腔炎の病態にILC2や肥満細胞が関与している可能性が示唆された。今後も症例数を増やし、解析を進める予定である。

#### <各疾患での各種細胞の存在率>

|   | 好酸球  | 好塩基球 | 肥満細胞 | ILC2 | pDC  |
|---|------|------|------|------|------|
| A | 14.9 | 0.71 | 2.34 | 0.23 | 0.45 |
| B | 0.6  | 0.39 | 0.59 | 0.08 | 0.18 |

A:好酸球性副鼻腔炎 (%)

B:慢性副鼻腔炎 (%)

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0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

平野 真希子 (HIRANO MAKIKO)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号:10611907

(2)研究分担者 なし

( )

研究者番号:

(3)連携研究者 なし  
( )

研究者番号: