

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790461

研究課題名(和文) IL-33によるメモリーTh2細胞依存性アレルギー性気道炎症制御の解明と治療応用

研究課題名(英文) The regulation of memory Th2 cell-dependent allergic airway inflammation through the IL-33-T1/ST2 pathway.

研究代表者

遠藤 裕介 (ENDO, Yusuke)

千葉大学・医学(系)研究科(研究院)・特任講師

研究者番号：80612192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は炎症性サイトカインIL-33によるPathogenicメモリーTh2細胞の誘導機構を解明することを目的として行った。IL-33によりメモリーTh2細胞のIL-5産生上昇が認められたが、T1/ST2欠損メモリーTh2細胞では認められなかった。マウス個体レベルの解析から、IL-33によりメモリーTh2細胞依存性アレルギー性気道炎症の増悪化が認められ、この作用はT1/ST2もしくはIL-33欠損マウスでは抑制された。ヒト臨床検体を用いた実験においても同様の実験結果が得られた。以上の結果は、IL-33-T1/ST2シグナルはアレルギー疾患の治療のターゲットとなる可能性を強く示唆している。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the effect of IL-33 on the function of memory Th2 cells. We detected IL-5 production was enhanced by culturing memory Th2 cells with IL-33. IL-33-induced IL-5 augmentation was not observed in T1/ST2-deficient memory Th2 cells. We further demonstrated the involvement of the IL-33-T1/ST2 pathway using memory Th2 cell-dependent airway inflammation models. A significant decrease in the number of inflammatory cells in the BAL fluid was observed in the T1/ST2 KO or IL-33 KO groups as compared to the WT group. We analyzed memory Th2 cells from patients with chronic rhinosinusitis and similar results were obtained to mice memory Th2 cells. These results strongly indicate that IL-33-T1/ST2-IL-5 signal could be a potential therapeutic target for treatment of chronic allergic inflammation induced by memory Th2 cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：アレルギー・免疫関連疾患

キーワード：アレルギー性気道炎症 メモリーTh2細胞 インターロイキン5(IL-5) IL-33 Eomesodermin (Eomes)

## 1. 研究開始当初の背景

IL-33は炎症性サイトカインであり、喘息をはじめとして多くのアレルギー性炎症に関与していることが報告されているが、そのターゲットについての詳細な研究はなされていない。そこで、本研究はIL-33がいつ、どの細胞をターゲットとし、どのようなメカニズムでアレルギー性気道炎症の増悪に働いているかを、メモリーTh2細胞のIL-5産生/pathogenicity(病因性)およびT-box転写因子Eomesの発現との関係性に着目し、明らかにするものである。

これまでの申請者らの研究、および予備的実験結果((1)~(6))は以下の通りである。

(1)エフェクターTh2細胞からメモリーTh2細胞分化の過程でEomesの発現量が顕著に上昇する。

(2)IL-5産生/非産生メモリーTh2細胞を用いたDNAマイクロアレイ解析の結果より、Eomesの発現量はIL-5産生細胞では低いまま維持されている。

(3)IL-5産生メモリーTh2細胞を除くと、メモリーTh2細胞依存的なアレルギー性気道炎症が抑制される。

(4)Eomes欠損エフェクターTh2細胞のIL-5産生量は野生型と同程度であるが、メモリーTh2細胞では顕著に上昇している。

(5)IL-33受容体であるT1/ST2の発現は、Eomesの発現とは逆相関し、IL-5産生メモリーTh2細胞で高く発現していた。

(6)メモリーTh2細胞に*in vitro*でIL-33を添加することにより、IL-5産生能が亢進した。

## 2. 研究の目的

これまでに私たちは、CD62L<sup>lo</sup>CXCR3<sup>lo</sup>の細胞表現型を示す細胞中に、IL-5を特異的に産生し、アレルギー性気道炎症を誘導するpathogenicメモリーTh2細胞を同定している。また、T-box転写因子EomesがメモリーTh2細胞のIL-5産生を抑制していること、およびメモリーTh2細胞の中でも特にpathogenicメモリーTh2細胞は炎症性サイトカインIL-33の受容体であるT1/ST2を強く発現していることを見いだしている。本研究では、

IL-33-T1/ST2経路によるメモリーTh2細胞のpathogenicityにおける役割について解析を行い、IL-33-T1/ST2-pathogenicメモリーTh2細胞という一連のシグナル経路をアレルギー性炎症の治療標的へと展開するための研究基盤を確立することが目的である。

## 3. 研究の方法

本研究では、pathogenicメモリーTh2細胞の機能形成、維持におけるIL-33シグナルの役割およびその分子制御メカニズムの解明および細胞表面分子によるIL-5産生メモリーTh2細胞の同定と抗体療法への応用について明らかにする。

そのため、本研究計画では以下の5つに絞って研究を行った。

(1)IL-33シグナルによるメモリーTh2細胞のEomesの発現制御

(2)IL-5産生能を中心としたメモリーTh2細胞の機能形成におけるIL-33シグナルの役割

(3)IL-33-T1/ST2シグナル経路によるメモリーTh2細胞依存的なアレルギー性気道炎症の制御(IL-33欠損およびT1/ST2欠損マウス)

(4)ヒト患者検体由来のメモリーTh2細胞を用いたIL-33-T1/ST2によるメモリーTh2細胞のpathogenicity亢進

## 4. 研究成果

これまでに私たちは、CD62L<sup>lo</sup>CXCR3<sup>lo</sup>の細胞表現型を示す細胞中に、IL-5を特異的に産生し、アレルギー性気道炎症を誘導するpathogenic(病因性)メモリーTh2細胞を同定している。また、メモリーTh2細胞の中でも特にpathogenicメモリーTh2細胞は炎症性サイトカインIL-33の受容体であるT1/ST2を強く発現していることを見いだしている。本研究では、IL-33-T1/ST2経路によるメモリーTh2細胞のpathogenicityにおける役割について解析を行った。

まず細胞レベルでIL-33のメモリーTh2細胞に対する作用について解析を行った。IL-33により記憶メモリーTh2細胞のIL-5産生上昇(pathogenicityの亢進)が認められたが、T1/ST2欠損メモリーTh2細胞で

はこのような効果は認められなかった。またマウス個体レベルでの解析でも IL-33 により、メモリーTh2 細胞依存的なアレルギー性気道炎症の増悪化が認められ、この増悪作用は T1/ST2 欠損マウス、もしくは IL-33 欠損マウスでは認められなかった。

平成 25 年度は、' Pathogenic memory type Th2 cells in allergic inflammation ' という総説に於いて、アレルギー疾患形成における新たなコンセプトを発表した (Endo et al., Trends in Immunol. 2014)。また、上述した IL-33 によるメモリーTh2 細胞の pathogenicity 亢進作用をヒト臨床検体に発展させた。慢性副鼻腔炎患者の鼻ポリープ組織中に浸潤している記憶 Th2 細胞を回収し、IL-33 に対する作用を解析したところ、マウスで得られた結果と同様に、IL-5 産生の上昇、pathogenicity の亢進が認められた。現在、上記の内容について論文投稿中である。

## 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 9 件 )

Endo, Y., Hirahara, K., Yagi, R., Tumes, D. J., and Nakayama, T.: Pathogenic memory type Th2 cells in allergic inflammation. *Trends Immunol.* (2014) 35(2):69-78.

DOI : 10.1016/j.it.2013.11.003 ( 査読有 )

Tumes, D. J., Onodera, A., Suzuki, A., Shinoda, K., Endo, Y., Iwamura, C., Hosokawa, H., Koseki, H., Tokoyoda, K., Suzuki, Y., Motohashi, S., and Nakayama, T.: The polycomb protein Ezh2 regulates differentiation and plasticity of CD4+ T helper type 1 and type 2 cells. *Immunity* (2013) 39(5):819-832.

DOI : 10.1016/j.immuni.2013.09.012 ( 査読有 )

遠藤裕介、中山俊憲、免疫記憶の制御、臨床免疫・アレルギー科、(2013) 60(3) : 309-316. ( 査読無 )

Hosokawa, H., Tanaka, T., Suzuki, Y., Iwamura, C., Ohkubo, S., Endoh, K., Kato, M., Endo, Y., Onodera, A., Tumes, D. J., Kanai, A., Sugano, S., and Nakayama, T.: Functionally distinct Gata3/Chd4 complexes coordinately establish T helper 2 (Th2) cell identity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2013) 110(12):4691-4696.

DOI : 10.1073/pnas.1220865110. ( 査読有 )

遠藤裕介、中山俊憲、T 細胞免疫記憶-メモリーT 細胞の多様性と病因となる細胞集団、臨床免疫・アレルギー科、(2012) 58(5):

613-620. ( 査読無 )

遠藤裕介、中山俊憲、記憶 CD4 T 細胞によるウイルス感染防御、アレルギーの臨床特集 : ウイルス感染と免疫・アレルギー、(2012) 436(32):23-27. ( 査読無 )

Iwamura, C., Shinoda, K., Endo, Y., Watanabe, Y., Tumes, D. J., Motohashi, S., Kawahara, K., Kinjo, Y., and Nakayama, T.: Regulation of memory CD4 T-cell pool size and function by natural killer T cells in vivo.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (2012) 109(42): 16992-16997.

DOI : 10.1073/pnas.1203494109 ( 査読有 )

遠藤裕介、中山俊憲、Pathogenic メモリー-Th2 細胞の同定と IL-5 産生分子メカニズムの解明、医学のあゆみ、(2012) 242(3): 266-267. ( 査読無 )

遠藤裕介、中山俊憲、IL-5 産生 pathogenic メモリー-Th2 細胞による慢性アレルギー炎症の制御、実験医学別刷、(2012) 30(6):899-904. ( 査読無 )

[ 学会発表 ] ( 計 6 件 )

Hosokawa, H., Tamaki, Y., Endo, Y., Tumes, D. J., Angela, M., Sarkar, M. H., and Nakayama, T.: Functionally distinct Gata3/Chd4 complexes coordinately establish Th2 cell identity. 第 42 回日本免疫学会総会学術集会 2013 年 12 月 11 日、幕張

Nakayama, T., Endo, Y., Onodera, A., and Tumes, D. J.: Generation and maintenance of pathogenic memory CD4 T cells. The 3rd CSI/JSI/KAI Joint Symposium on Immunology. 2013 Dec. 2, Korea

Nakayama, T., Iwamura, C., Shinoda, K., and Endo, Y.: Pathogenic memory Th2 cells in the airway and regulation by activated NKT cells in vivo. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013 年 11 月 30 日、東京

Tumes, D., Onodera, A., Suzuki, A., Shinoda, K., Endo, Y., Iwamura, C., Hosokawa, H., Koseki, H., Tokoyoda, K., Suzuki, Y., and Nakayama, T.: The histone methyltransferase Ezh2 regulates differentiation and plasticity of CD4 T helper cells. AAI Annual Meeting, 2013 May 6, Honolulu, USA

Iwamura, C., Endo, Y., Onodera, A., Watanabe, Y., Suzuki, A., Kinjo, Y., and Nakayama, T.: Regulation of memory CD4 T cell pool size and function by NKT cells in vivo. 第 41 回日本免疫学会学術集会 2012 年 12 月 6 日、神戸

Nakayama, T., Endo, Y., Kuwahara, M., Yamashita, M., Iwamura, C., Shinoda, K., and Tokoyoda, K.: Generation and maintenance of memory CD4 T cells. THE 34th NAITO CONFERENCE ON Infection, Immunity, and

their control for Health. 2012 Oct 18, Sapporo

[図書](計 1 件)

遠藤裕介、中山俊憲、南山堂、T細胞の免疫記憶、免疫学 Update -分子病態の解明と治療への展開-、(2012) 87-97.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

遠藤 裕介 (ENDO, Yusuke)

千葉大学・大学院医学研究院・特任講師

研究者番号：8 0 6 1 2 1 9 2