

【要約】

IL-22 induces Reg3 γ expression from lung epithelial cells and inhibits allergic airway inflammation in house dust mite-induced asthma models

(IL-22は気道上皮からのReg3 γ の産生を誘導し、チリダニ誘導性アレルギー性気道炎症を抑制する。)

千葉大学大学院 医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：中島裕史教授)

伊藤 崇

喘息はさまざまな刺激物に対する気管内への好酸球やリンパ球浸潤、粘液産生、気道抵抗性を特徴とする疾患であり、近年世界的に患者が増加傾向になっていることから公衆衛生学の点からも問題となっている。過去の報告から喘息の病態形成において抗原特異的 Th2 細胞や IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 などの Th2 サイトカインが中心的役割を果たすことが知られているが、近年喘息患者の中で IL-17A などの Th2 サイトカイン以外のサイトカインが増加していることや Th2 サイトカインに対する抗体治療の効果が一部分の患者群に留まることから、抗原特異的 Th2 細胞以外の細胞が喘息の病態に関わっていることが示唆される。以前より Th17 サイトカインとして同定された IL-22 は臓器によって炎症を惹起する報告や抗炎症作用を示す報告がされているが、いくつかの報告では喘息患者の中で増えていることが明らかになってきている。しかし、IL-22 が喘息に対しどのような働きをしているかは未だ明らかになっていない。本研究ではチリダニ (HDM) 誘導性アレルギー性気道炎症に対する IL-22 の働きを解明することを目的とした。

まず IL-22 におけるアレルギー性気道炎症の働きを調べるために、野生型 (WT) マウスおよび IL-22 欠損 (IL-22^{-/-}) マウスに Day0, Day7 に HDM 感作 (50 μ g)、Day15-Day18 に連日 HDM チャレンジ (5 μ g) の気管内投与を施行し、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症を惹起した。その後気管支肺胞液 (BALF) における好酸球、CD4 陽性 T 細胞の評価および、肺組織の炎症細胞浸潤、杯細胞過形成の評価、血清中免疫グロブリン、縦隔リンパ節中のサイトカインの評価を行った。その結果、IL-22^{-/-}マウスでは WT マウスに比べ BALF 中好酸球の絶対数、炎症細胞中の好酸球割合、CD4 陽性 T 細胞の絶対数の増加が見られ、肺組織中では傍気管支領域および傍血管領域における炎症細胞浸潤の増加および杯細胞過形成の悪化が見られた。また、同時に血清の評価を行った所 HDM 特異的 IgG1 値および総 IgE 値の上昇を認め、縦隔リンパ節上清中の IL-5、IL-13、IL-17A 産生の増加が見られた。以上より IL-22^{-/-}マウスでは HDM 誘導性アレルギー性気道炎症が悪化することが明らかになった。

次に HDM 誘導性アレルギー性気道炎症における肺 IL-22 産生細胞の解析を行った。WT マウスに HDM 感作、チャレンジを行い、FACS による肺 IL-22 陽性細胞の解析を行った。その結果、肺 IL-22 陽性細胞のほぼ全てが CD3 ϵ 陽性細胞であった。さらに IL-22 および CD3 ϵ 陽性細胞の中で大部分が TCR $\alpha\beta$ および CD4 陽性細胞であり、一部分は CD8 陽性細胞もしくは TCR $\gamma\delta$ 陽性細胞であった。一方 Lineage 陰性 Thy1.2 陽性の ILC は IL-22 を産生していなかった。次に IL-22 および CD4 陽性細胞の解析を行った所、IL-22 および CD4 陽性細胞は IFN- γ 、IL-5、IL-13、IL-17A いずれも陰性であった。以上の結果より HDM 誘導性アレルギー性気道炎症における肺 IL-22 産生細胞は大部分が CD4 陽性細胞であるが、それらのサブセットは Th1, Th2, Th17 いずれとも違うサブセットであると考えられた。

IL-22 がどのようにしてアレルギー性気道炎症を抑制するか明らかにするため、RNA sequence 法により IL-22 により発現誘導される遺伝子を網羅的に解析した。WT マウスに IL-22 の気管内投与を行い、肺 total RNA を採取し RNA-sequence 解析を行った。その結果、IL-22 により有意に発現誘導される遺伝子として 18 遺伝子が同定され、その中に以前より抗菌ペプチドとして知られている Reg3 γ が含まれることが明らかとなった。その後、肺内における Reg3 γ の発現を解析するために肺上皮細胞を単離し定量的 PCR を行ったところ Reg3 γ mRNA は他の Reg3 family mRNA に比べ有意に多く発現し、更に HDM 投与下においてさらに発現が増加することが明らかになった。また免疫染色により Reg3 γ protein の発現を検討したところ Reg3 γ は気道上皮細胞に発現し、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症の誘導によりその発現が亢進すること、さらに IL-22^{-/-}マウスにおいては減弱することが明らかになった。また、IL-22 の生理活性は STAT3 に依存することが示されているため、テトラサイクリン投与下において気道上皮特異的に Cre を発現するマウスと STAT3^{fllox} マウスを交配することにより気道上皮特異的 STAT3 欠損マウスを作成後アレルギー性気道炎症を惹起し、肺組織における Reg3 γ protein 免疫染色で検討した。その結果気道上皮特異的 STAT3 欠損マウスでは Reg3 γ の発現が低下した。

以上より HDM 誘導性アレルギー性気道炎症において Reg3 γ は IL-22/STAT3 経路により発現誘導されることが明らかとなった。

次に Reg3 γ が喘息に対しどのように働くか解析を行うため、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症における Reg3 γ 中和抗体の影響を調べることにした。WT マウスへ HDM による感作、チャレンジを行う最中に、チャレンジ初回直前に Reg3 γ 中和抗体を投与した群とコントロール抗体を投与した群の 2 群において、気管支肺胞液 (BALF) における好酸球、CD4 陽性 T 細胞の評価および、肺組織の炎症細胞浸潤、杯細胞過形成の評価、血清中免疫グロブリン、メサコリンに対する気道過敏性、縦隔リンパ節中のサイトカインの評価を行った。その結果、Reg3 γ 中和抗体投与群ではコントロール抗体投与群に比べ、BALF 中好酸球の絶対数、CD4 陽性 T 細胞の絶対数の増加が見られ、肺組織中では傍気管支領域および傍血管領域における炎症細胞浸潤の増加および杯細胞過形成の悪化が見られた。また同時に血清では HDM 特異的 IgG1 値の上昇を認め、メサコリンに対する気道過敏性の上昇も認めた。さらに縦隔リンパ節上清中の IL-5、IL-13 産生の増加が見られた。以上より Reg3 γ 中和抗体を投与したマウスでは HDM 誘導性アレルギー性気道炎症が悪化することが明らかになった。

最後に Reg3 γ が喘息を抑制する機序を解析するために、以前より Reg3 γ の受容体として報告のある EXTL3 の解析を行った。その結果、EXTL3 は肺の中で気道上皮細胞に特異的に発現していることが明らかになった。気道上皮細胞は上皮サイトカインを産生し肺 ILC2 を増加させることにより喘息病態に関与していることが知られるため、次に HDM 誘導性アレルギー性気道炎症において Reg3 γ の上皮サイトカイン産生および ILC2 産生における働きを検討した。その結果、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症において recombinant Reg3 γ を投与した群では TSLP、IL-33 の発現が抑制されること、および肺内 ILC2 数が低下していることが明らかとなった。

以上の結果より、主に CD4 陽性 T 細胞より産生された IL-22 は STAT3 活性を介

し、気道上皮細胞より Reg3 γ 産生を誘導し、その後 Reg3 γ が気道上皮細胞上の EXTL 3を介し、上皮サイトカインである IL-33、TSLP 産生および肺 ILC2 産生を抑制することにより、HDM 誘導性アレルギー性気道炎症の発症を抑制することが示唆された。