



ぜんそくなどのアレルギー疾患における 新たなブレーキ経路の発見

～難治性アレルギー疾患の新規治療薬開発に期待～

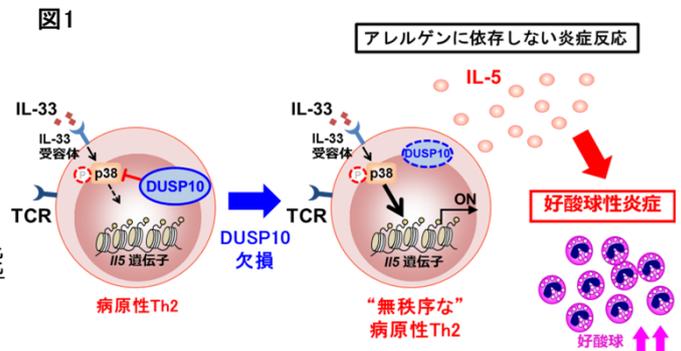
千葉大学大学院医学研究院免疫発生学教室の中山 俊憲教授の研究グループは、JST戦略的創造研究推進事業において、かずさDNA研究所先端研究開発部オミックス医科学研究室の遠藤裕介室長の研究グループと共同で、ぜんそくなどのアレルギー疾患における新たなブレーキ経路を発見しました。

■ 研究の背景

花粉症やぜんそく、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患は増加の一途をたどっており、国民の約3割が罹患しているとの報告もあります。難治性アレルギー疾患の代表格でもあるぜんそくは多因子により調節され、人それぞれに誘導経路も重症度も異なることが知られています。そのため、従来の吸入ステロイド(注1)による対症療法だけでは治療効果の低い患者さんも多く、新たな治療法の開発が求められています。

■ 本研究の成果

本研究グループは、DUSP10という分子がアレルギー反応を引き起こす病原性2型ヘルパーT(Th2)細胞(注2)の機能を抑えることを新たに発見しました。さらに、DUSP10を人為的に調節することで病原性Th2細胞だけでなく、非常に強いアレルギー誘導能を持つ2型自然リンパ球(注3)の機能を抑えることができ、ぜんそくが起こらなくなることがわかりました(図1)。



■ 今後の展開

本研究の成果に加え、米国の研究グループはぜんそく患者さんでDUSP10が総じて低下していることを報告しています。以上のことから、DUSP10分子がぜんそくや慢性副鼻腔炎(注4)といった難治性慢性アレルギー疾患(注5)の画期的な治療ターゲットとして大いに役立つだけでなく、新たなバイオマーカーとしての可能性も期待されます。また、慢性アレルギー疾患治療薬の開発に新たな可能性をもたらすことが考えられます。

本研究は、千葉大学の下条 直樹教授、植松 智教授(現大阪市立大学教授)、東京大学の濡木 理教授の協力を得て行いました。

本研究成果は、2018年10月12日(米国東部時間)発行の米国科学誌「Nature Communications」オンライン版に掲載されました。(<https://www.nature.com/articles/s41467-018-06468-8>)

論文タイトル: "DUSP10 constrains innate IL-33-mediated cytokine production in ST2hi memory-type pathogenic Th2 cells" (DUSP10はST2hi記憶型病原性Th2細胞のIL-33を介した自然免疫機能を制限する)

■ 研究の背景と経緯

アレルギー疾患は日本において国民の3人に1人が罹患しており、いわゆる国民病として位置づけられています。代表的アレルギー疾患であるぜんそくは下気道の気道狭窄や喘鳴などの症状で特徴づけられる慢性炎症疾患であり、世界ではおよそ300万人が罹患していると報告されています。しかし、その治療はステロイド吸入による対症療法がほとんどで、いまだに根治治療は開発されていません。そのため、一旦発症すると慢性化することが多く治療が長期にわたり、患者さんの生活の質（QOL）が著しく低下することから、現代医学が解決すべき大きな課題の1つとなっています。

これまでの研究から、ぜんそくの慢性化にはハウスダストや花粉などの原因物質（アレルゲン^(注6)）に反応し、強いアレルギー誘導能をもつ病原性T細胞が関わっていることがわかってきました。その中でもIL-5という炎症性タンパク質を多量に産生する病原性Th2細胞はぜんそくだけでなく慢性皮膚炎や慢性副鼻腔炎などを引き起こす原因細胞であると、われわれだけでなく海外の研究グループから報告されており、その重要性について盛んに研究が行われています。

近年、免疫応答を人為的にコントロールすることでアレルギーやがんを治そうとする治療法が開発され、大いに注目を集めています。免疫細胞の中でもT細胞は、免疫システム全体を調節し、アレルギー反応の制御やがん細胞の除去に関与することから、治療法開発のターゲットとされてきました。本研究では、アレルギー疾患の治療開発を念頭に、われわれが発見したぜんそくを引き起こす病原性Th2細胞の機能調節メカニズムに焦点をあて研究を行いました。

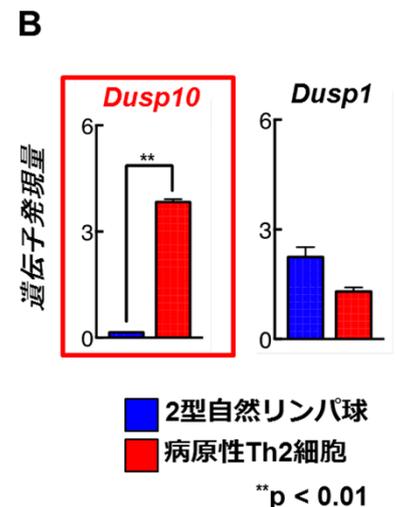
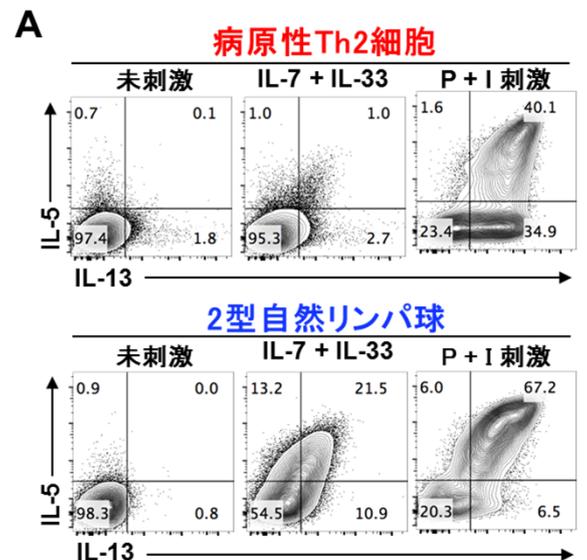
■ 研究の内容

われわれが発見した病原性Th2細胞は、その機能や特徴から、近年新たに同定された2型自然リンパ球と酷似しています。しかしながら、病原性Th2細胞は抗原（アレルゲン）を直接認識することにより機能を発揮するのに対して、2型自然リンパ球はIL-33をはじめとした特定のサイトカイン^(注7)が作用することで、抗原非依存的な応答を示します。もし病原性Th2細胞が2型自然リンパ球と同じようにアレルゲンによらずむやみやたらに活性化してしまったら、生体にとって非常に危険な状態になります。

本研究グループは、この病原性Th2細胞と2型自然リンパ球のちがいを調べる目的で、網羅的に遺伝子発現を探索することのできるRNAシーケンス法を用いて解析を行いました。その結果についてくわしく解析したところ、脱リン酸化酵素DUSP10分子が病原性Th2細胞で特異的に高発現していることがわかりました（図2-B）。

図2:病原性Th2細胞と2型自然リンパ球のIL-33に対する応答性とDUSP10の遺伝子発現量

- (A) 病原性Th2細胞はIL-33に対してほとんど応答出来ないのに対して、2型自然リンパ球はIL-33に反応して多量のIL-5やIL-13を産生することができた。抗原反応刺激に相当するP + I（PMA + Ionomycin）刺激では両方の細胞ともにたくさんのサイトカインを産生した。
- (B) DUSP10の遺伝子発現量についての結果。2型自然リンパ球ではほとんど遺伝子発現が認められなかったのに対して、病原性Th2細胞では十分な量のDUSP10が認められた。同じグループのDUSP1は両者ともに同程度の発現が認められた。



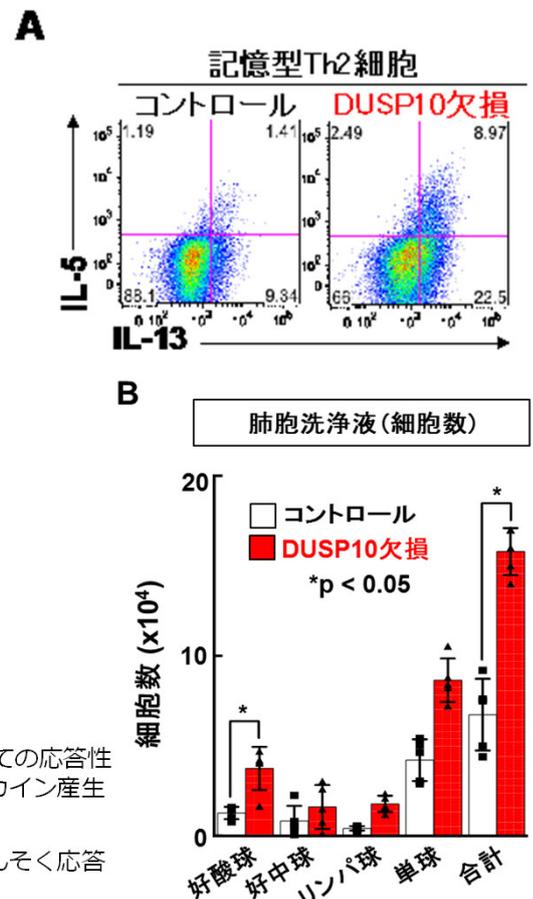
DUSP10は二重特異性タンパク質ホスファターゼ群 (DUAL Specificity Phosphatase) に含まれています。DUSP分子は基質となるリン酸化酵素の活性を調節することで様々なシグナル制御を行っていることが知られていますが、DUSP10の免疫システムでの働きについてはほとんど解明されていませんでした。RNAシーケンス解析の結果から、われわれはDUSP10が病原性Th2細胞の暴走を抑え、過剰な免疫応答が起こらないようにしているのではないかと仮説を立て、DUSP10欠損細胞を用いて研究を行いました。

その結果、予想通り、DUSP10欠損によってアレルゲン非依存的に病原性Th2細胞は活性化し、多量のIL-5を産生するようになることがわかりました (図3-A)。また、その原因について調べたところ、病原性Th2細胞の機能的シグナル分子であるp38(注8) タンパク質のリン酸化を抑えていることが明らかになりました。

DUSP10の病原性Th2細胞における生理的作用を調べるために、野生型およびDUSP10欠損細胞を用いて、ぜんそくへの影響について検討を行いました。野生型マウス群では、アレルギー性気道炎症の指標である好酸球(注9)の浸潤やTh2サイトカイン産生がほとんど認められなかったのに対して、DUSP10欠損群ではこれらのアレルギー性炎症反応が強く起こることがわかりました (図3-B)。

図3: DUSP10欠損によって病原性Th2細胞が暴走し、ぜんそくが増悪化した

- (A) CRISPR/Cas9システムを用いてDUSP10遺伝子を欠損させ、IL-33についての応答性を検討したところ、DUSP10を欠損した病原性Th2細胞では著しいサイトカイン産生の増強が認められた。
- (B) DUSP10欠損型病原性Th2細胞を移入した群ではアレルゲン非依存的なぜんそく応答が示された。特に肺胞洗浄液中の好酸球数が増加した。



次に、DUSP10の発現が認められなかった2型自然リンパ球に人為的にDUSP10を誘導するとどのようなことが起こるか検討しました。すると驚くべきことに、2型自然リンパ球の特徴でもあるIL-33応答による活性化・機能が非常に弱くなりました。つまり、DUSP10を誘導した2型自然リンパ球はIL-5などのサイトカインも産生することができず、T細胞でいう不応答 (アナジー) のような状態に陥ることがわかりました (図4-A)。

さらに、ぜんそくモデルを用いて病態への影響についても調べたところ、予想通りDUSP10誘導群では好酸球や気道抵抗も起こらず、ぜんそくがほとんど起こらないようになることが示されました (図4-B)。

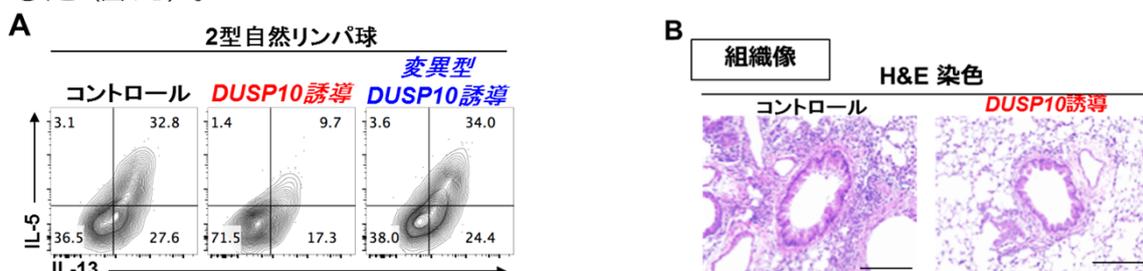


図4: DUSP10の誘導により、2型自然リンパ球の機能が抑えられた

- (A) レトロウイルスシステムによりDUSP10を2型自然リンパ球に誘導するとIL-33に対する応答性が著しく低下した。脱リン酸化機能をもたない変異型DUSP10誘導群ではこのような抑制作用は認められなかった。
- (B) DUSP10を誘導した2型自然リンパ球はぜんそく反応を起こすことができない。図は肺への炎症細胞の浸潤を検出しているが、DUSP10誘導群ではほとんど炎症細胞が認められなかった。

■今後の展開

本研究では、ぜんそくなどをはじめとしたアレルギー疾患の新たなブレーキ役としてDUSP10を同定し、病原性Th2細胞と2型自然リンパ球のIL-33応答性の違いを決めている新規メカニズムを解明しました(図5)。この発見は、健康な状態ではなぜ病原性Th2細胞がむやみやたらに暴走しないのかといった、免疫アレルギー学の基本概念の解明にもつながると考えています。また、米国の研究グループはぜんそく患者さんでDUSP10が総じて低下していると報告しています。このことから、ぜんそく患者さんのT細胞は、DUSP10によるブレーキシステムが破綻し、すでに暴走した状態になっていることが予想され、DUSP10がぜんそくの新たな遺伝子バイオマーカーとして活用されることが期待されます。

また、本研究の重要な点として、DUSP10を調節することで、病原性Th2細胞だけでなく2型自然リンパ球の活性化が劇的におさえられました。マウスぜんそくモデルにおいても、DUSP10の機能を調節することでぜんそく病態が劇的に改善されたことから、DUSP10を創薬ターゲットとすることで、慢性アレルギー疾患治療薬の開発に新たな可能性をもたらすと考えられます。特に多くのアレルギー疾患の治療薬として使われている抗炎症薬は種々の炎症性サイトカインなどのタンパク質の産生を抑制しますが、創薬ターゲットが広がったことで従来では対処が困難であったステロイド抵抗性の難治性慢性アレルギー疾患の治療開発に役立つことが期待されます。

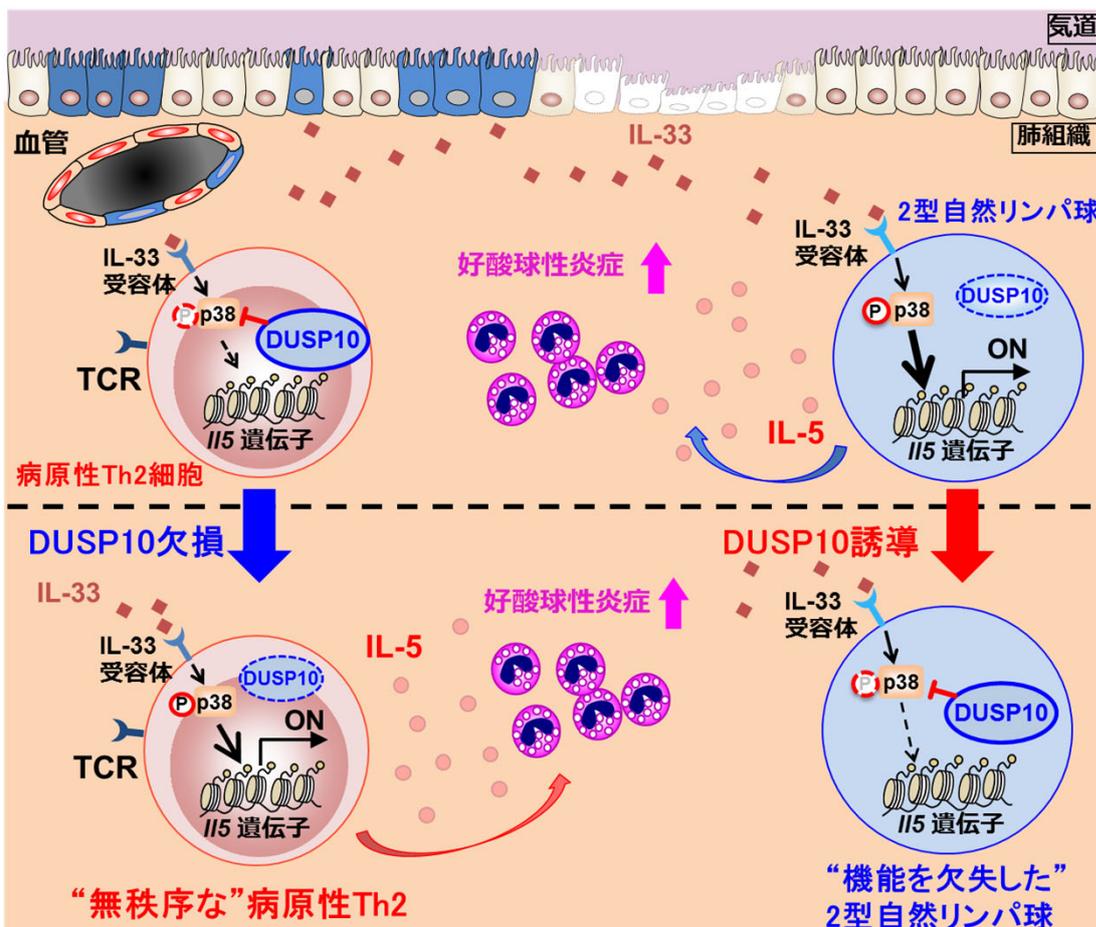


図5:本研究で明らかとなったDUSP10による病原性Th2細胞のブレーキシステム

DUSP10は病原性Th2細胞に発現し、IL-33依存的なp38のリン酸化シグナルをブロックすることで病原性Th2細胞が暴走しないようにブレーキをかけている。一方、2型自然リンパ球はもともとDUSP10が発現していないためIL-33に応答し、自然免疫機能を発揮することができる。今回の研究で、DUSP10が適切にはたらくことでアレルギー非依存的な過剰アレルギー反応が起こらないよう抑制されていることが明らかとなった。

■千葉大学とかずさDNA研究所の連携について

2009-2014年：

地域イノベーション戦略支援プログラムでは、千葉県が国から受けた競争的資金をもとに、当研究所を中核機関として、医療を担う千葉大学と、基礎研究で最先端をいく理化学研究所が連携して、免疫・アレルギー疾患の克服を目指した研究を行い、数多くの成果をあげた。

2015年：

これまでの研究成果の臨床活用、および千葉県における医学研究の発展に向けて、千葉大学未来医療教育研究機構と人事交流も含めた密な連携関係を構築していく包括的な共同研究契約を締結。

2016年：

千葉大学がこれまでに行ってきたがん、免疫・アレルギー、各種疾患に関する研究と当研究所がこれまで蓄積してきたゲノム解析技術を統合して、ゲノム医療の実現を加速するための連携研究室を設置し、ゲノム医学に対する新しい取り組みを開始。

2018年：

クロスアポイント制度を利用して、千葉大学大学院医学研究院特任准教授である遠藤裕介氏を室長として迎え、かずさDNA研究所に蓄積されたヒトゲノム研究の成果を将来のゲノム医療の展開に活用していくために、様々な先端計測により実現される「オミックス」解析と医学研究の統合による新しい研究領域を切り拓いていくことを目指し、オミックス医科学研究室を新設。

*クロスアポイント制度とは；

研究者が大学、公的研究機関、民間企業のうち、二つ以上の組織と雇用契約を結び、一定の勤務割合の下で、それぞれの組織における役割分担や指揮命令系統に従いつつ、研究・開発および教育などの業務に従事することを可能にする制度です。新たなイノベーションを創出するための技術移転や、人材の流動化の促進につながると期待されています。

■用語解説

注1：吸入ステロイド

ステロイドは、ヒトの副腎でつくられる副腎皮質ホルモンで、体内の炎症反応を抑える働きを持つ。アレルギーや自己免疫疾患の治療薬でしばしば使用される。しかし、特に全身投与時には、糖尿病、骨粗しょう症、高血圧など副作用も多い。ぜんそくの治療には、吸入ステロイドが広く用いられる。

注2：2型ヘルパーT（Th2）細胞

白血球の1種でB細胞とともにリンパ球に分類される。T細胞はさらにキラーT細胞とヘルパーT細胞に分類され、前者はがん細胞やウイルスに感染した細胞などを攻撃し排除する。後者はサイトカインと呼ばれる液性因子を分泌し、B細胞やキラーT細胞の働きを助ける役割を担う。ヘルパーT細胞の中でも、IL-4、IL-5、IL-13を産生し、寄生虫排除の役割を担う細胞集団は2型ヘルパーT（Th2）細胞と呼ばれている。Th2細胞の過剰応答は様々なアレルギー疾患の引き金となることが知られている。

注3：2型自然リンパ球

自然リンパ球はリンパ球系に属する自然免疫細胞であるが、抗体特異的な応答はしない。あるものはヘルパーT細胞類似である一方、細胞傷害性のナチュラルキラー細胞なども含む。2型自然リンパ球はIL-5やIL-13といった2型サイトカインを産生し、寄生虫排除やアレルギーへの関与が示唆されている。

注4：慢性副鼻腔炎

慢性副鼻腔炎とは、アレルギー性の副鼻腔炎が長引き、膿汁の副鼻腔内の貯留、炎症性の粘膜肥厚が起き、ひどい症状のものでは鼻茸と呼ばれる鼻腔粘膜から生じる炎症性増殖性の腫瘤が発生する難治性の疾患である。鼻茸に好酸球の浸潤を伴う慢性副鼻腔炎は特に好酸球性副鼻腔炎と呼ばれ、鼻内所見や画像所見で多発性の鼻茸を示し、その鼻茸は篩骨洞に両側性に存在するという特徴を持つ。このような特徴に加え好酸球性副鼻腔炎はぜんそく、特に成人発症のぜんそくの合併が高いなど従来型の慢性副鼻腔炎とは異なる臨床像が知られている。

注5：慢性アレルギー疾患

早期に収束する急性炎症に対して、長期感持続する炎症を慢性炎症として区別されている。慢性炎症を伴う疾患にはさまざまな種類があり、気道の慢性アレルギー疾患であるぜんそくやアトピー性皮膚炎などはその代表例として知られている。これらの疾患の割合は年々増加しており、長期にわたり生活の質を低下させるため、国民の健康上重大な問題となっているが、その治療は対症療法がほとんどで、いまだに根治治療は確立されていない。

注6：アレルゲン

生体において、アレルギー反応を引き起こしてしまう物質をアレルゲンと呼ぶ。花粉、ハウスダスト、ダニなどの他に、蕎麦、小麦、や蜂毒などが知られている。

注7：サイトカイン

細胞が分泌する液性因子であり、細胞間の情報伝達を仲介する。中でもインターロイキン（IL）と呼ばれる一連のグループは主に免疫系の細胞から分泌され、免疫系が正常に働くために重要である。

注8：p38

p38はさまざまな環境刺激や炎症性サイトカインによって活性化されるMAPキナーゼファミリーメンバーの1つである。MAPキナーゼは細胞運命の決定に重要なシグナル伝達システムであり、出芽酵母からヒトに至る全ての真核生物で保存されている。MAPキナーゼの中でも特にp38は免疫応答に関わりが深く、病原体の感染などによっても活性化され、炎症の制御に中心的な役割を果たしている。

注9：好酸球

白血球の一種で、寄生虫感染症から生体を守る役割をもつ。一方で、ぜんそくをはじめとするアレルギー性疾患で炎症を誘導する原因となっている。

【本研究に関するお問い合わせ】

千葉大学 大学院医学研究院 免疫発生学（H3）教授 中山 俊憲（ナカヤマ トシノリ）
Tel：043-226-2185 Fax：043-227-1498
E-mail：tnakayama@faculty.chiba-u.jp

【取材に関するお問い合わせ】

千葉大学 未来医療系事務部医学部事務部 総務係 白崎（シラサキ）
Tel：043-226-2841 E-mail：med-international@chiba-u.jp