

氏 名 松本 晃治

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲博士第819号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 平成30年 9月12日

学 位 論 文 題 目 Soluble ST2 suppresses IL-5 production by human basophilic KU812 cells, induced by epithelial cell-derived IL-33.

(可溶性 ST2 は、上皮由来の IL-33 によるヒト好塩基球株である KU812 細胞からの IL-5 産生を抑制する)

審 査 委 員 主査 教授 松 浦 博

副査 教授 目 良 裕

副査 教授 醍 醐 弥太郎

論 文 内 容 要 旨

※整理番号	826	(ふりがな) 氏 名	まつもと こうじ 松本 晃治
学位論文題目	Soluble ST2 suppresses IL-5 production by human basophilic KU812 cells, induced by epithelial cell-derived IL-33. (可溶性 ST2 は、上皮由来の IL-33 によるヒト好塩基球株である KU812 細胞からの IL-5 産生を抑制する)		
<p>【目的】 IL-33 は、上皮細胞の核内に存在するタンパク質で、上皮への抗原暴露などによって放出されることが知られている。IL-33 は好塩基球や 2 型自然リンパ球など様々な細胞表面に存在する受容体である ST2L を介して、IL-5 などの Th2 サイトカインを産生する。一方 soluble ST2(sST2)は IL-33 の生理活性を阻害するデコイ受容体と考えられている。</p> <p>好塩基球は IL-33 により ST2L を介して、Th2 サイトカインを分泌するとの報告があるが、上皮細胞に対する抗原刺激によって誘導された IL-33 が、好塩基球に働き、Th2 サイトカインを産生するメカニズムやその制御機構についてはわかっていない。</p> <p>そこで本研究は上皮細胞と好塩基球の相互作用による IL-5 産生における、IL-33 と sST2 の役割を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>上皮細胞として、IL-33 遺伝子を導入したヒト気道上皮細胞(hBE33 cell)を用いた。まず上皮による IL-33 放出の経時変化を調べた。上皮細胞をダニ抗原で刺激し、上清中の IL-33 を ELISA 法で測定した。好塩基球として、ヒト慢性骨髄性白血病由来の好塩基球株である KU812 細胞を用いた。好塩基球を IL-33、ダニ抗原、IL-18 で刺激し、上清中の IL-5 を ELISA 法で測定した。</p> <p>上皮細胞と好塩基球の相互作用を調べるため、上皮細胞をダニ抗原で刺激し、1 時間後、4 時間後、16 時間後に回収した上清で、それぞれ好塩基球を 48 時間刺激し、上清中の IL-5 を ELISA 法で測定した。上清に含まれる IL-33 が IL-5 産生に関与しているかどうか検討するため、上皮をダニ抗原で刺激した上清で好塩基球を刺激する際に、IL-33 抗体および ST2 受容体抗体を添加して、48 時間培養後の上清中の IL-5 を ELISA 法で測定した。さらに上皮細胞と好塩基球の共存下でダニ抗原を加え、上清中の IL-5 を ELISA 法で測定した。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

次に上皮細胞をダニ抗原で刺激し、上清中の sST2 を ELISA 法で測定した。上皮のみ、好塩基球のみ、また上皮と好塩基球の共存在下で、ダニ抗原で 48 時間刺激した上清中の sST2 を ELISA 法で測定した。さらに sST2 が IL-33 の測定におよぼす影響を調べるため、recombinant IL-33 に recombinant soluble ST2 を加え、IL-33 を ELISA 法で測定した。最後に好塩基球を、上皮細胞刺激後の上清で刺激する際に、recombinant sST2 を添加し、上清中の IL-5 を ELISA 法で測定した。

結果は Mann-Whitney *U* test と、Kruskal-Wallis one-way analysis を用いて統計学的有意差の検討を行った。

【結果】

ダニ抗原刺激による、上皮細胞からの IL-33 は刺激後 15 分という短時間で放出され、2 時間後には減少した。好塩基球は IL-33 刺激により有意に多くの IL-5 を産生したが、IL-18 やダニ抗原で直接刺激した際には IL-5 産生は増加しなかった。上皮細胞をダニ抗原で 1 時間刺激した、IL-33 を多く含む上清で好塩基球を刺激した際、有意に IL-5 産生が増加した。上皮細胞をダニ抗原で刺激した上清で好塩基球を刺激する際に、IL-33 抗体および ST2 受容体抗体を添加すると、IL-5 産生は有意に減少した。これらの結果から上皮細胞がダニ抗原刺激によって放出した IL-33 が好塩基球からの IL-5 産生に関与することが分かった。

上皮からの sST2 産生は時間依存的に増加した。また上皮細胞と好塩基球の共存在下では、上皮細胞単独、または好塩基球単独で培養した時と比べて有意に sST2 産生が増加した。recombinant IL-33 に recombinant sST2 を加えた際には、sST2 の濃度依存的に IL-33 は減少した。上皮細胞をダニ抗原で刺激した後の上清で、好塩基球を刺激する際に、recombinant sST2 を添加すると、recombinant sST2 の濃度依存的に好塩基球からの IL-5 産生は減少した。以上から上皮細胞と好塩基球の共存在下で、IL-5 が産生されなかったのは、sST2 が関与していることが示唆された。

【考察】

本研究では、上皮細胞をダニ抗原で刺激した1時間後の、IL-33を多く含む上清により好塩基球を刺激した際に、IL-5が多く産生され、そのIL-5産生はIL-33抗体やST2受容体抗体によって抑制されることを明らかにした。また抗原刺激4時間後、16時間後に回収したIL-33の濃度が低い上清で好塩基球を刺激してもIL-5産生が増加しなかった。これらは抗原に暴露された時に、上皮細胞と好塩基球の相互作用によって生じる自然免疫応答としてのIL-5産生において、IL-33が重要な役割を果たしていることを明らかにした。一方上皮細胞と好塩基球の共存下ではダニ抗原で刺激してもIL-5産生はみられなかった。この要因として、我々はIL-33の生理活性を阻害するsST2に着目し、sST2は上皮細胞から時間依存的に産生されること、また共存下ではより多くのsST2が産生されることを明らかにした。さらにrecombinant sST2により、上皮刺激後の上清で好塩基球を刺激した際のIL-5産生が抑制されたことから、sST2は上皮細胞から放出されたIL-33による、好塩基球からのIL-5産生を抑制することを明らかにした。過去の報告では、マウスモデルにおいて、sST2を投与するとダニ抗原による感作を強力に阻害するとの報告があり、本研究のin vitroのモデルはin vivoにおける自然免疫応答としてのTh2反応を反映していると考えられる。

以上から、我々は上皮細胞がダニ抗原刺激後早期にIL-33を放出し、好塩基球からのIL-5産生を誘導すること、またそのIL-33による過剰な炎症反応は、後から産生されるsST2により抑制されることを明らかにした。sST2は今後のさらなる研究により、アレルギー性気道炎症の治療法となる可能性がある。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	8 2 6	氏 名	松本 晃治
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、好酸球性炎症における気道上皮と好塩基球の相互作用について明らかにするために、IL-33 遺伝子を導入したヒト気道上皮細胞株 (hBE33 cell) とヒト慢性骨髄性白血病由来の好塩基球株 (KU812 cell) を用いて検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 上皮細胞はダニ抗原の刺激後ごく短時間から IL-33 を放出し、ダニ抗原で上皮細胞を刺激した際の上清で好塩基球を刺激すると、好塩基球は IL-5 を産生した。また、この IL-5 産生は、IL-33 中和抗体の添加により抑制された。よって、ダニ抗原刺激によって上皮細胞から放出された IL-33 は、好塩基球での IL-5 産生を誘導したと考えられた。2) 上皮細胞と好塩基球の共培養ではダニ抗原を加えても IL-5 は産生されなかった。また、上皮細胞をダニ抗原で刺激すると、IL-33 の生理活性を阻害する soluble ST2 が時間依存的に産生された。よって、上皮細胞から放出された IL-33 による好塩基球における IL-5 産生は、後から放出される soluble ST2 により抑制されたと考えられた。 <p>本論文では、上皮細胞からの IL-33 を介した好塩基球での IL-5 の産生とその制御機構について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 589 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 30 年 8 月 31 日)</p>			