

[第8回日本アレルギー学会学術大会賞受賞論文]

綜 説

## アレルギー性鼻炎と IL-33

京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室

武藤 陽子

**Key words:** allergic rhinitis — basophils — Interleukin 33 — model mouse —  
pollinosis

### はじめに

アレルギー性鼻炎 (Allergic Rhinitis; AR) は『くしゃみ・水様性鼻漏・鼻閉』を3主徴とする非常に身近なアレルギー疾患の一つである。ARはハウスダストなどをアレルゲンとする通年性ARと、花粉症の季節性ARに二分される。患者数は全世界で推定6億人を超え<sup>1)</sup>、日本国内では10年前と比較してAR全体で有病率は10%増加し、39.4%の人が罹患していると報告されている。通年性ARと比較すると花粉症の有病率は19.6%から29.8%と増加が著しい<sup>2)</sup>。国民病といっても過言ではないほど多くの患者がARに悩まされている。しかし、そのメカニズムは未だ不明な点が非常に多く、治療法は発症時の対症療法が中心である。一方、近年上下気道の関連に注目が集まり、ARのメカニズムを解明することはARのみならず、喘息の治療にも有用であると考えられている。

筆者らはブタクサ花粉 (ragweed pollen; RW) 特異的 AR モデルマウスを世界で初めて樹立し、花粉刺激によって鼻粘膜上皮から短時間で

放出される IL-33 が AR 発症の必須因子の1つであることを明らかにした<sup>3)</sup>。

本稿では、まず、IL-33の構造、産生機序、シグナル伝達機構と生理作用について述べる。次に、RW特異的ARモデルマウスの特徴と、本モデルマウスを用いて解明したAR発症機序について述べる。最後に、AR患者鼻粘膜のIL-33発現を紹介し、ARにおけるIL-33の関与について解説する。

### IL-33

#### 1) 構造と産生機序

IL-33はIL-1 $\beta$ やIL-18と相同性の高いアミノ酸配列を有するIL-1ファミリーに属するサイトカインとして、2005年にクローニングされた比較的新しいサイトカインである<sup>4)</sup>。IL-33遺伝子は元来、高内皮静脈で強く発現する核内因子 Nuclear Factor from High Endothelial Venules (NF-HEV) として報告された<sup>5)</sup>。270個のアミノ酸から構成される蛋白であり、N末端にクロマチン結合ドメインと核移行シグナルを有しているため、IL-33は細胞核内に局在する<sup>6)</sup> (Fig. 1)。

Received: June 16, 2014, Accepted: August 5, 2014

#### THE ROLE OF IL-33 IN ALLERGIC RHINITIS

Yoko Muto

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

**Abbreviations:** AR "allergic rhinitis", IL-33 "interleukin 33", NF-HEV "nuclear factor from high endothelial venules", RW "ragweed pollen", TSLP "thymic stromal lymphopoietin", CTMC "connective tissue-type mast cell", MMC "mucosal mast cell"

武藤陽子：京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室〔〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上る梶井町 465〕

E-mail: yoko-h@koto.kpu-m.ac.jp

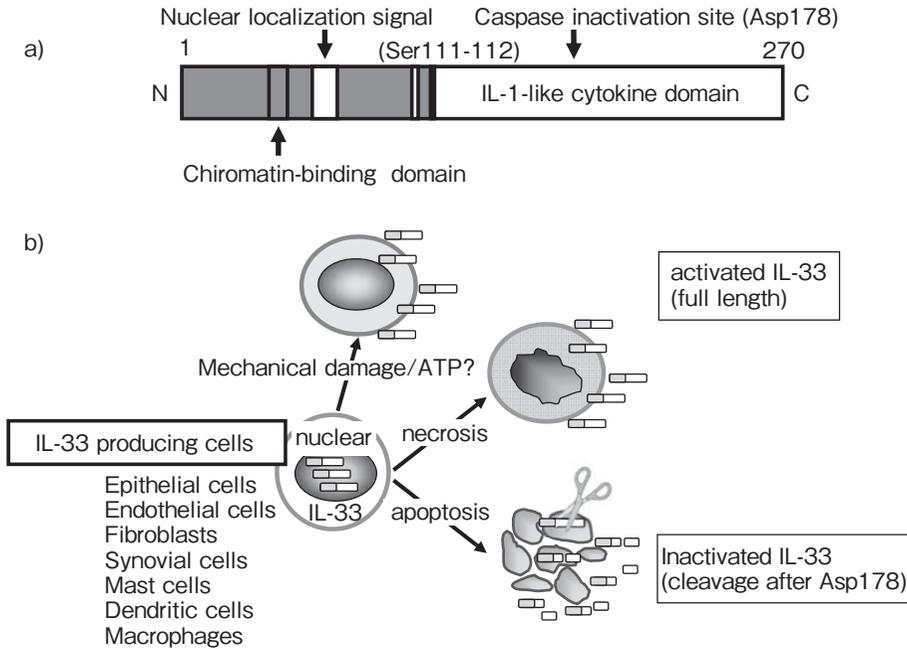


Fig. 1. IL-33.

(a) Structure of IL-33. (b) Expression of IL-33 and its secretion.

IL-1ファミリーであるIL-1 $\beta$ とIL-18は細胞内で前駆体として産生され、アポトーシスにより誘導されたCaspaseにより切断されて生理活性をもつ分泌型IL-1 $\beta$ 、分泌型IL-18として細胞外へ分泌される。IL-33も発見当初は細胞内の『前駆体』がCaspase-1によりN末端のアミノ酸Ser111(ヒト)(Fig. 1a)で切断され『活性化型』として分泌されると考えられていた<sup>4)</sup>。最近ではFig. 1bに示すように、IL-33はcaspase-1またはアポトーシスで活性化されるcaspase-3とcaspase-7によってIL-1様サイトカインドメインのアミノ酸Asp178の直前が切断され不活性化することと全長型IL-33<sub>1-270</sub>が生理活性を有することが明らかになった<sup>7,8)</sup>。IL-33はFig. 1bに示すように上皮細胞を始め種々の細胞で発現し様々な刺激(ネクロシス・機械的刺激・ATPなど)により産生されることが報告されている。

## 2) シグナル伝達機構と生理作用

IL-33の受容体はIL33R $\alpha$  (ST2)とIL-33R $\beta$  (IL1RAcP)から構成されている<sup>9,10)</sup>。前者はIL-

33結合分子、後者はシグナル伝達に重要な分子である。IL-33がST2に結合すると細胞質内のToll/IL-1R相同領域(TIRドメイン)にアダプター分子であるMyD88が結合し、IRAK4, IRAK1, TRAF6が活性化され、続いてNF- $\kappa$ BやMAPKが活性化される結果シグナルが伝達される<sup>4,11-13)</sup>(Fig. 2a)。

IL-33の標的細胞と主な生理作用をFig. 2bに示す。ST2はTh2細胞<sup>14)</sup>、好塩基球<sup>13)</sup>、マスト細胞<sup>15)</sup>、好酸球<sup>16)</sup>といったアレルギー関連細胞上に発現している。その他、近年相次いで発見された細胞系マーカーが陰性で、c-KitとSca-1を発現する細胞集団がある。この細胞にIL-33が作用すると、IL-13を始めとするTh2サイトカインを迅速且つ大量に産生する。これらの細胞はnuocyteやnatural helper細胞と呼ばれ、近年アレルギー性炎症で重要な役割を担うことが明らかとなり、注目を集めている<sup>17,18)</sup>。

ヒトのアレルギー疾患においても、一塩基多型(SNP)解析から、ST2遺伝子領域にアトピー性皮

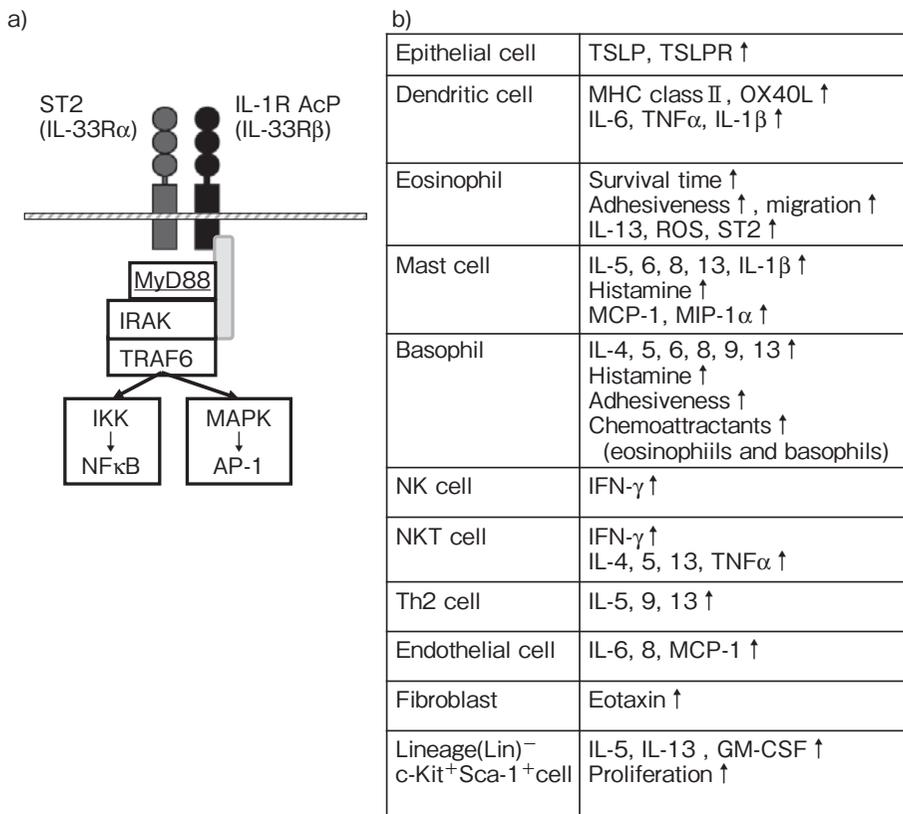


Fig. 2. IL-33 receptor.

(a) Receptor and signaling.

(b) ST2 -expressing cells and IL-33- induced cellular function.

膚炎<sup>19)</sup>や喘息<sup>20)</sup>の罹患感受性と関連のある遺伝子多型が、IL-33 遺伝子領域に花粉症<sup>21)</sup>あるいは喘息罹患感受性とその末梢血好酸球数<sup>20)</sup>と関連のある遺伝子多型が存在することが証明されている。以上の結果から、IL-33 は Th2 型アレルギー疾患の増悪因子と考えられている。

### AR における IL-33 の役割

日本人のスギ特異的 AR 患者の血清 IL-33 値は有意に高値を示し、AR 発症と有意な関連を示す IL-33 の遺伝子多型が報告されている<sup>21)</sup>。しかし IL-33 が AR の病態にどのように関与しているかは不明であった。

そこで、著者らは新規の花粉尘特異的アレルギー性鼻炎モデルマウスを樹立し、AR における IL-33

の役割について検討した<sup>3)</sup>。まず、モデルマウスの特徴について詳述する。用いた花粉抗原は欧米において主要な抗原となっているブタクサ花粉 (RW) である。実験では、正常 Balb/c マウスに RW と水酸化アルミニウムを 0 日目、RW のみを 7 日目に腹腔内投与し、14 日目から 4 日間 RW 又は PBS を点鼻投与した (Fig. 3)。その結果、RW 点鼻群は PBS 点鼻群に比較して、①最終点鼻後 10 分間のくしゃみ回数の著明な増加、②最終点鼻後 24 時間後の鼻粘膜への好酸球浸潤、③鼻粘膜上皮の多列化とムチン産生の亢進を伴い、④血清 RW 特異的 IgE 及び、⑤頸部リンパ節細胞からの RW 特異的 Th2 サイトカイン産生を著明に増強した (Fig. 4)。更に、⑥本モデルマウスによって元来鼻粘膜に存在しない好塩基球が RW 点鼻後

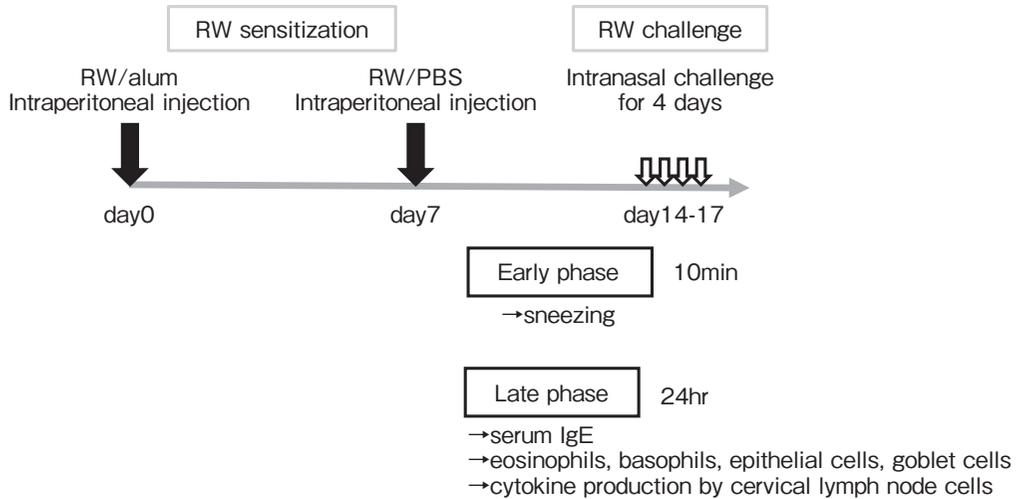


Fig. 3. Experimental schema of a murine model of ragweed pollen (RW)-specific AR.

経時的に著明に浸潤増加することを初めて発見した。正常無感作マウスに RW を点鼻しても好塩基球浸潤は認められないことから、鼻粘膜への好塩基球浸潤には RW 特異的 Th2 免疫応答が必須である。

この RW 特異的 AR モデルマウスを用いて AR 発症における IL-33 の役割について検討する目的で、RW で免疫した IL-33 欠損マウスに RW を点鼻した。その結果、コントロールマウスに比較し、①点鼻後 10 分間のくしゃみ回数は約 20 回に減少、②点鼻後 24 時間後の鼻粘膜への好酸球と好塩基球の浸潤はそれぞれ約 1/4、約 1/2 に減少、③鼻粘膜上皮は一層でムチン産生は認められず、④血清 RW 特異的 IgE 及び、⑤頸部リンパ節細胞からの RW 特異的 Th2 サイトカイン産生は著明に抑制されていた<sup>3)</sup> (Fig. 4)。以上の結果から、RW の点鼻によって内因性 IL-33 が誘導されることが推測された。実際、⑥ IL-33 蛋白がマウス鼻粘膜上皮細胞核内に恒常的に存在することを共焦点レーザー顕微鏡で確認し、RW 点鼻後経時的に IL-33 の発現を観察すると、点鼻後 30 分と非常に迅速に細胞核内の IL-33 が消失することを見出した。更に、⑦正常マウスに RW を点鼻して経時的に鼻腔洗浄液を採取し、IL-33 蛋白を ELISA で測定した結果、点鼻後 1 時間と速やかに多量の IL-33 蛋白

(600-800pg/ml) が検出された<sup>3)</sup>。

AR 発症における好塩基球とマスト細胞の役割を検討する実験では、好塩基球欠損マウス、FcεRI 欠損マウス及びマスト細胞欠損マウスを用いた。好塩基球欠損マウスの作成は、Balb/c マウスに抗 FcεRI 抗体を投与することで生体内から好塩基球を除去する方法<sup>22)</sup>を用いた。その結果、いずれのマウスにおいてもコントロールマウスに比べ、①点鼻後 10 分間のくしゃみ回数の減少(約 20 回)、②点鼻後 24 時間後の鼻粘膜への好酸球(約 1/3)と好塩基球(約 1/5)の浸潤が著しく抑制された<sup>3)</sup>。

以上の結果から、RW によって鼻粘膜上皮細胞から迅速に放出される IL-33 は、FcεRI<sup>+</sup>細胞(好塩基球とマスト細胞)を刺激してくしゃみ、好酸球/好塩基球の鼻粘膜への集積に関与することが示唆された。実際、in vitro にて FcεRI を架橋して活性化された好塩基球とマスト細胞は IL-33 刺激によって、①ヒスタミン産生を増強し、②好酸球遊走因子(IL-13, eotaxin, RANTES)と好塩基球遊走因子(MCP-1, MIP-1α)の産生を増強した。以上の結果から、AR 症状の増悪(即時相の“くしゃみ”と遅発相の“鼻粘膜への好酸球・好塩基球の浸潤”)に鼻粘膜上皮由来の IL-33 と FcεRI 陽性細胞が必須の因子であることが明らかになった<sup>3)</sup> (Fig. 5)。

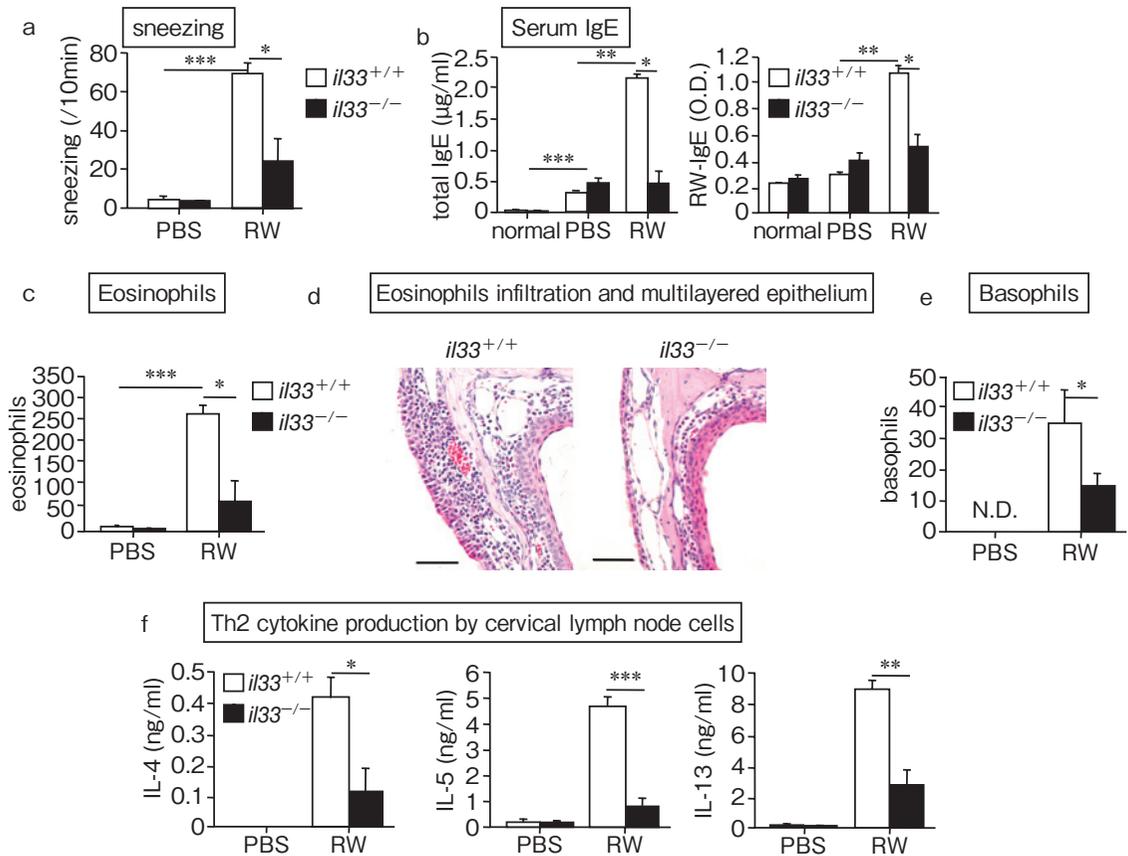


Fig. 4. IL-33 deficient mice fail to induce ragweed pollen (RW)-induced AR. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.005$  and \*\*\* $p < 0.001$ . N.D.: not detected.

### AR 患者鼻粘膜の IL-33 発現

福井大学医学部耳鼻咽喉科との共同研究で、①スギ花粉症発症患者（スギ特異的 IgE 陽性，スギ花粉飛散時期に花粉症あり）13 名と、②コントロール（吸入抗原 7 項目全てに対して特異的 IgE 陰性，花粉症なし）11 名を対象に，2009 年度スギ飛散時期に鼻上皮細胞を擦過して鼻粘膜から RNA を抽出し，IL-33 mRNA 発現を解析した。その結果，スギ花粉症発症患者の鼻粘膜ではコントロールに比較して IL-33 mRNA 発現が著明に亢進していた<sup>3)</sup>。以上の結果から，花粉飛散時期には AR 患者鼻粘膜の IL-33 mRNA 発現が亢進し，IL-33 蛋白が鼻腔内に放出されると考えられた。

### おわりに

筆者らの研究から IL-33 がアレルギー性鼻炎の症状の増悪に関与することが明らかになった。しかし，IL-33 の産生・放出，IL-33 の作用については未だ不明な点が多い。アレルギー性鼻炎患者での IL-33 の役割が明らかになれば，IL-33 を標的とした全く新しい AR 診断技術と治療・予防技術の開発に繋がるのが期待される。

利益相反 (conflict of interest) に関する開示：著者は本論文の研究内容について他者との利害関係を有しません。

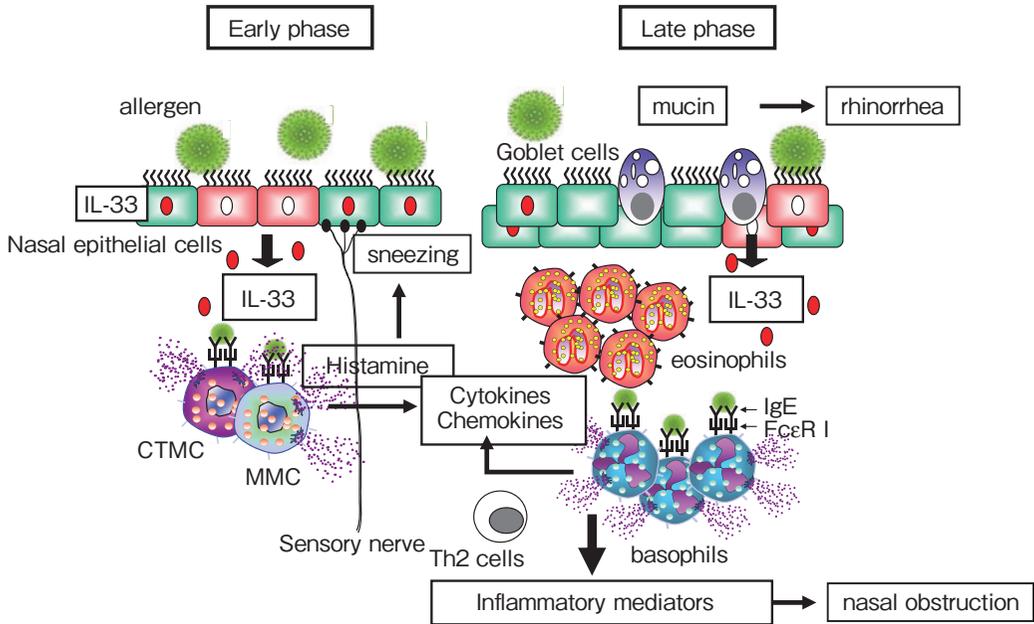


Fig. 5. Schematic representation of contribution of IL-33 to allergic responses in AR.

(connective tissue-type mast cell: CTMC, mucosal mast cell: MMC)

## 文献

- 1) Bousquet J, Dahl R, Khaltaev N. Global alliance against chronic respiratory diseases. *Allergy* 2007; 62: 216–23.
- 2) 馬場廣太郎, 中江公裕. 鼻アレルギーの全国疫学調査 2008 (1998 年との比較)—耳鼻咽喉科医およびその家族を対象として—. *Prog Med* 2008; 28: 2001–12.
- 3) Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, et al. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 184–94.
- 4) Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005; 23: 479–90.
- 5) Baekkevold ES, Roussigne M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol* 2003; 63: 69–79.
- 6) Carriere V, Roussel L, Ortega N, Lacorre DA, Americh L, Aguilar L, et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 282–7.
- 7) Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 9021–6.
- 8) Luthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C, et al. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity* 2009; 31: 84–98.
- 9) Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol* 2007; 179: 2551–5.

- 10) Palmer G, Lipsky BP, Smithgall MD, Meinger D, Siu S, Talabot-Ayer D, et al. The IL-1 receptor accessory protein (AcP) is required for IL-33 signaling and soluble AcP enhances the ability of soluble ST2 to inhibit IL-33. *Cytokine* 2008; 42: 358–64.
- 11) Ho LH, Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Suto H, Iikura M, et al. IL-33 induces IL-13 production by mouse mast cells independently of IgE-FcεRI signals. *J Leukoc Biol* 2007; 82: 1481–90.
- 12) Funakoshi-Tago M, Tago K, Hayakawa M, Tominaga S, Ohshio T, Sonoda Y, et al. TRAF6 is a critical signal transducer in IL-33 signaling pathway. *Cell Signal* 2008; 20: 1679–86.
- 13) Kondo Y, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi-Yumikura S, Morimoto M, Hayashi N, et al. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *Int Immunol* 2008; 20: 791–800.
- 14) Lohning M, Stroehmann A, Coyle AJ, Grogan JL, Lin S, Gutierrez-Ramos JC, et al. T1/ST2 is preferentially expressed on murine Th2 cells, independent of interleukin 4, interleukin 5, and interleukin 10, and important for Th2 effector function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 6930–5.
- 15) Moritz DR, Rodewald HR, Gheyselinck J, Klemenz R. The IL-1 receptor-related T1 antigen is expressed on immature and mature mast cells and on fetal blood mast cell progenitors. *J Immunol* 1998; 161: 4866–74.
- 16) Cherry WB, Yoon J, Bartemes KR, Iijima K, Kita H. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1484–90.
- 17) Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, et al. Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+) Sca-1(+) lymphoid cells. *Nature* 2010; 463: 540–4.
- 18) Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature* 2010; 464: 1367–70.
- 19) Shimizu M, Matsuda A, Yanagisawa K, Hirota T, Akahoshi M, Inomata N, et al. Functional SNPs in the distal promoter of the ST2 gene are associated with atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 2919–27.
- 20) Gudbjartsson DF, Bjornsdottir US, Halapi E, Helgadóttir A, Sulem P, Jonsdóttir GM, et al. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nat Genet* 2009; 41: 342–7.
- 21) Sakashita M, Yoshimoto T, Hirota T, Harada M, Okubo K, Osawa Y, et al. Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 1875–81.
- 22) Yoshimoto T, Yasuda K, Tanaka H, Nakahira M, Imai Y, Fujimori Y, et al. Basophils contribute to T<sub>H</sub>2-IgE responses in vivo via IL-4 production and presentation of peptide-MHC class II complexes to CD4<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 706–12.