

Role of interleukin 5-induced eosinophils in interleukin 33-triggered airway inflammation in mice

(IL-33 誘導性好酸球性気道炎症モデルマウスにおける IL-5 の役割)

【緒言】

気管支喘息は気道過敏性の亢進と好酸球性気道炎症を特徴とする呼吸器疾患である。好酸球は気管支喘息の病態形成において重要な因子であり、インターロイキン (IL) -5 は好酸球の分化・増殖・活性化に重要な役割を果たしている。我々はこれまで、IL-5 受容体 α 鎖欠損マウス (IL-5R $\alpha^{-/-}$) を用いて、アレルギー型喘息モデルを作成し、IL-5 の重要性を報告してきた。一方、IL-33 は気道上皮内に存在し、気道が障害されることにより、気道上皮細胞から放出されるサイトカインであり、2 型自然リンパ球 (ILC2) を活性化し、IL-5 および IL-13 を産生する。その結果、アレルゲンを介さずに好酸球性気道炎症を誘導し、喘息の病態形成に深く関わっていることが示唆されている。しかし、IL-33 誘導性気道炎症モデルにおいて IL-5 により誘導される好酸球の役割に関しては不明な点が多い。

そこで、今回、本疾患モデルに IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスを導入して IL-5 により誘導、活性化した好酸球の役割に関して研究する。

【方法】

野生型:C57BL/6 (WT) マウスおよび IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウス (8-12 週齢、雌) を使用し、吸入麻酔下に IL-33 を経鼻的に投与し、IL-33 誘導性気道炎症モデルマウスを作成した。IL-33 は、1 日 1 回 (0.5 μ g)、3 日間投与した。対照群には PBS を用いた。メサコリンをネブライザー吸入させ、気道抵抗が 2 倍に上昇した濃度 (Mch PC200) を比較した。Mch PC200 が対照群と比較して有意に低かった場合を試験陽性と定義した。二酸化炭素吸入により呼吸停止させたうえで血液および気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取した。BALF 中の炎症細胞を顕微鏡およびフローサイトメトリーを用いて計測した。一部のマウスは BAL を施行せず、肺組織を採取し、HE 染色、PAS 染色および DFS 染色を行い、病理学的検索を行った。BALF 中の IL-5, IL-7, IL-13, EDN を測定した。BALF 上清中の IL-2, IL-4, IL-9, IL-10, IL-17, Eotaxin, G-CSF, IFN- γ , MCP-1 を Bio-plex pro マウスサイトカイン 23-plex パネルを用いて測定した。また、TGF- β 1 を Bio-plex pro TGF- β 3-plex パネルを用いて測定した。統計解析は統計ソフト GraphPad Prism version 8.4®を用いて行った。2 要因で分類される多群の検定には 2-way ANOVA を、2 群間の比較にはマン・ホイットニー U 検定を用いた。統計学的有意差の判定は $p < 0.05$ を基準とした。

【結果】

WT マウスにおいて IL-33 投与群は PBS 群と比較して気道過敏性の亢進を認めた。IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでは WT マウスと比較して、気道過敏性の亢進は軽度であった。BALF 中の好酸球

を除く炎症細胞数は IL-33 投与群で PBS 投与群と比較して増加を認めた。好酸球数は、IL-33 を投与した WT マウスでのみ有意に増加していた。BALF の IL-5 および IL-13 は IL-33 投与によって有意に増加していた。興味深いことに WT マウスと比較して IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでより高値であった。さらに BALF 中の Eotaxin, IL-17, G-CSF, MCP-1 も WT マウスと比較して IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでより有意に上昇していた。DFS 染色を行った肺組織では、IL-33 を投与した WT マウスにおいて好酸球の浸潤を認めた。IL-33 投与群において PAS 陽性の粘液産生細胞の増加を認めたが、WT マウスと IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスの間に差はなかった。基底膜に関しては IL-33 投与で肥厚しており、IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスと比較して WT マウスでより有意な肥厚を認めた。次に、好酸球を核形と表面抗原を用いて分類した。核がリング状の恒常性好酸球 (rEos) および分葉状の炎症性好酸球 (iEos) とともに WT マウスで IL-33 投与により有意に増加していたが、IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでは増加していなかった。表面マーカーで分類した結果も核形同様であった。さらに、EDN は IL-33 投与した IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスと比較して WT マウスで上昇していた。BALF 中の ILC2 をフローサイトメトリーで測定したところ、WT マウスと比較して IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスで有意な増加を認めた。ILC2 の増殖・抑制因子を測定したところ、増殖因子である IL-2, IL-4, IL-7 は測定感度以下であった。一方抑制因子である IL-10, IFN- γ , TGF- β 1 は WT マウスと比較して IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでむしろ高値であった。

【考察】

WT マウスでは IL-33 経鼻投与によって好酸球性気道炎症、気道リモデリング、および気道過敏性の亢進を認めた。IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでは、好酸球を除く炎症細胞の増加、WT マウスよりは弱いものの気道過敏性の亢進を認めた。病理学的には PAS 陽性の粘液産生細胞の増加を WT および IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスともに認め、基底膜肥厚は WT 有意ではあるものの IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでも認めたことから、IL-5 により誘導された好酸球が存在しなくても IL-33 による気管支喘息様の気道炎症が起こることが明らかになった。

IL-33 を投与した WT マウスと比較して IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスで有意に BALF 中の IL-5, IL-13 の上昇していたため、ILC2 を測定したところ、サイトカイン同様に IL-5R $\alpha^{-/-}$ マウスでより増加していた。IL-5 により誘導される好酸球が存在しないことで ILC2 がむしろ増殖・活性化する可能性が示唆された。