「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成 23 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

中山　俊憲

千葉大学大学院医学研究院
教授

# 気道炎症の慢性化機構の解明と病態制御治療戦略の基盤構築

## §1. 研究実施体制

(1)「中山」グループ

① 研究代表者:中山　俊憲 （千葉大学大学院医学研究院、教授）

② 研究項目

・慢性気道炎症モデルにおける記憶 Th1/Th2/Th17 細胞の形成・機能転換の分子機構の解明

・慢性気道炎症組織での記憶 Th 細胞微小環境の解析と浸潤炎症細胞のダイナミクス

・気道炎症の慢性化に関わる機能分子を標的にした慢性炎症制御法の開発

・ヒト難治性慢性気道炎症疾患での解析

## §２．研究実施の概要

1.慢性気道炎症モデルにおける記憶Th1/Th2/Th17細胞の形成・機能転換の分子機構の解明

これまでに、抗原特異的な記憶Th細胞を大量にしかもTh1、Th2、Th17といった機能を維持した形で調製できるモデル実験系(メモリーTh1/Th2/Th17マウス)を確立し(Nakayama et al. *Semin. Immunol.* 2009)、細胞内のクロマチン制御因子が記憶Th1/Th2細胞の生存や機能維持に関わっていることを明らかにしてきた。この実験系を用いて、慢性気道炎症組織における記憶Th2細胞の機能転換に関する解析を行った。記憶細胞特異的なサイトカイン産生調節という観点で記憶Th細胞の機能修飾や可塑性に関する解析を行って慢性炎症の病態維持のメカニズムを解明する研究を進めた。また、活性化NKT細胞誘導性の記憶Th2細胞の機能修飾に関わる分子機構を解明する研究を進め、この研究を学会等で発表し、討論を行った。さらに、記憶Th17細胞の記憶細胞形成機序および気道炎症制御に関する研究を行い、論文にまとめ投稿した。また、PcG分子のEzh2がT細胞のquiescenceの保持や不必要な刺激に対する反応を抑制していることを明らかにし、論文発表を行った(Tumes et al. *Immunity.* 2013)。この論文では、Ezh2ノックアウトマウスをSPF環境下で飼育していると2型の気道炎症を激しく起こす実験結果を示した。更にプレスリリースを行い社会に発信した。NHK等の報道機関にニュースとして取り上げられた。

2.慢性気道炎症組織での記憶Th細胞微小環境の解析と浸潤炎症細胞のダイナミクス

記憶Th細胞が接着している細胞群(ストローマ細胞)を多重染色法と共焦点レーザー顕微鏡を用いて同定を試みた。慢性気道炎症組織では記憶Th細胞が浸潤しその場に留まっており、「炎症ニッシェ」とでも言うべき、液性因子や接着分子等で統御された細胞集積構造が存在する可能性が高いので、骨髄記憶Th細胞ニッシェで機能している分子群に焦点をあてて解析を行った。

3.気道炎症の慢性化に関わる機能分子を標的にした慢性炎症制御法の開発

既知候補分子の新規抗体作製と阻害実験をさらに進めた。慢性の気道炎症モデル動物実験系を確立した。

4.ヒト難治性慢性気道炎症疾患での解析

患者から組織サンプルや末梢血サンプルを集め、細胞を精製して機能解析を進めた。また、組織学的な解析も進めた。

## §3. 成果発表等

### (3－1) 原著論文発表

論文詳細情報（国内）

1. 篠田健太,中山俊憲　記憶ヘルパ−T 細胞の形成と維持の分子機構　臨床免疫・アレルギ−科　59（4）: 477-482（2013・4）
2. 岩村千秋,中山俊憲　NKT 細胞によるメモリ−CD4 T 細胞の制御　臨床免疫・アレルギ−科　59（5）: 572-580（2013・5）
3. 桑原誠,山下政克,中山俊憲　転写因子 Sox4 による Th2 細胞分化制御　医学のあゆみ 245（7）: 602-603（2013・5）
4. 桑原誠,山下政克,中山俊憲　Sox4, TGF-βと Th2 分化　感染・炎症・免疫　43（2）: 58-59（2013・7）
5. 岩村千秋,中山俊憲　NKT 細胞によるメモリ−CD4T 細胞の数と機能の制御　医学のあゆみ　246（3）: 262-263（2013・7）
6. 遠藤裕介,中山俊憲　免疫記憶の制御　臨床免疫・アレルギ−科　60（3）: 309-316（2013・9）
7. 平原潔,中山俊憲　気管支喘息病態形成における T 細胞サブセットの可塑性と多様性 実験医学増刊　病態の理解に向かうアレルギ−疾患研究　31（17）: 150-154（2013・11）
8. 平原潔,中山俊憲　ヘルパ−T 細胞サブセットの多様性と気道アレルギ−性炎症の病態形成における役割　医学のあゆみ　花粉症—研究と治療の進展　247（12,13）: 1203-1207（2013・12）
9. 桑原誠,山下政克,中山俊憲　転写因子 Sox4 を介する TGF-βによるアレルギ−炎症の抑制機構　炎症と免疫　22（2）: 24-27（2014・3）

論文詳細情報（国際）

1. Suzuki, J., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Imamura, M., Kato, F., **Nakayama, T.**, Ohara, O., and Yamashita, M., “A novel small compound SH-2251 suppresses Th2 cell-dependent airway inflammation through selective modulation of chromatin status at the *Il5* gene locus”, ***PLOS ONE*** 8(4): e61785, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0061785)
2. Hasegawa, A., Iwamura, C., Kitajima, M., Hashimoto, K., Otsuyama, K., Ogino, H., **Nakayama, T.**, and Shirai, M., “Crucial role for CD69 in the pathogenesis of dextran sulphate sodium-induced colitis”, ***PLOS ONE*** 8(6): e65494, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0065494)
3. Sasaki, T., Onodera, A., Hosokawa, H., Watanabe, Y., Horiuchi, S., Yamashita, J., Tanaka, H., Ogawa, Y., Suzuki, Y., and **Nakayama, T.,** “Genomic-wide gene expression profiling revealed a

critical role for GATA3 in the maintenance of the Th2 cell identity", ***PLOS ONE*** 8(6): e66468, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0066468)

4. Yamashita, J., Iwamura, C., Ito. T., Narita, M., Hara, Y., Sasaki, T., Masuda, D., Takahashi, M., Tsuchiya, M., Hada, K., Ishikawa, M., Matsuo, T., Ohno, Y., Tanaka, H., Maruyama, H., Ogawa, Y., and **Nakayama, T.**, "Paraoxonase-1 suppresses experimental colitis via the inhibition of IFN-γ production from CD4 T cells", ***J. Immunol.*** 191(2): 949-960, 2013 (DOI: 10.4049/jimmunol.1201828)

5. Hanazawa, A., Hayashizaki, K., Shinoda, K., Yagita, H., Okumura, K., Löhning, M., Hara, T., Tani-ichi, S., Ikuta, K., Eckes, B., Radbruch, A., Tokoyoda, K., and **Nakayama, T.**, "CD49b-dependent establishment of T helper cell memory.", ***Immunol. Cell Biol.*** 91:524-531, 2013 (DOI: 10.1038/icb.2013.36)

6. Hosokawa, H., Tanaka, T., Kato, M., Shinoda, K., Tohyama, H., Hanazawa, A., Tamaki, Y., Hirahara, K., Yagi, R., Sakikawa, I., Morita, A., Nagira, M., Poyurovsky, V. M., Suzuki, Y., Motohashi, S., and **Nakayama, T.**, "Gata3/Ruvbl2 complex regulates T helper 2 cell proliferation via repression of Cdkn2c expression", ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA*** 110(46): 18626-18631, 2013 (DOI: 10.1073/pnas.1311100110)

7. Tumes, D. J., Onodera, A., Suzuki, A., Shinoda, K., Endo, Y., Iwamura, C., Hosokawa, H., Koseki, H., Tokoyoda, K., Suzuki, Y., Motohashi, S., and **Nakayama, T.**, "The polycomb protein Ezh2 regulates differentiation and plasticity of $CD4^+$ T helper type 1 and type 2 cells", ***Immunity*** 39(5): 819-832 , 2013 (DOI: 10.1016/j.immuni.2013.09.01)

8. Iwata, A., Kawashima, S., Kobayashi, M., Okubo, A., Kawashima, H., Suto, A., Hirose, K., **Nakayama, T.**, and Nakajima, H., "Th2-type inflammation instructs inflammatory dendritic cells to induce airway hyperreactivity", ***Int. Immunol.*** 26(2): 103-114, 2014 (DOI: 10.1093/intimm/dxt047)

## (3－2) 知財出願

① 平成 25 年度特許出願件数(国内 1 件)
② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)