

好塩基球・M2 マクロファージによる皮膚慢性アレルギー炎症抑制機構の解明

三宅健介

東京医科歯科大学 高等研究院 炎症・感染・免疫研究室

【研究の背景】

アレルギー疾患の罹患者数は3人に1人ほど存在し、国民病ともいわれる。なかでも慢性型のアレルギー疾患に関しては病態も不明の部分が多く、根本的治療法の開発は喫緊の課題である。最近、申請者らの研究グループは顆粒球の一種である好塩基球がIgE依存性慢性皮膚アレルギー炎症(IgE-CAI)の誘導に必須の役割を果たしていることを解明した。(Egawa et al. *Immunity* 2013, Miyake et al. *Allergy* 2021)

一方、IgE-CAIの炎症後期には好塩基球が自身の産生するIL-4によってM2マクロファージを誘導し、炎症を終焉に向かわせる。(Egawa et al. *Immunity* 2013)炎症局所においてM2マクロファージが産生できないマウスでは、アレルギー炎症が持続し、局所への炎症細胞の浸潤も増加する。以上より好塩基球によって誘導されたM2マクロファージは慢性アレルギー炎症の抑制に重要な役割を果たすと考えられる。しかしながら、このM2マクロファージがどのようにして炎症抑制機能を果たしているのかはほとんどわかっていない。M2マクロファージによる炎症抑制メカニズムを解明できれば、アレルギー炎症を終息させアレルギー症状を改善する治療薬の開発につながると期待される。

【目 的】

本研究は、好塩基球由来IL-4によって分化・誘導されたM2マクロファージによる皮膚アレルギー炎症抑制機構を解明することを目的とする。

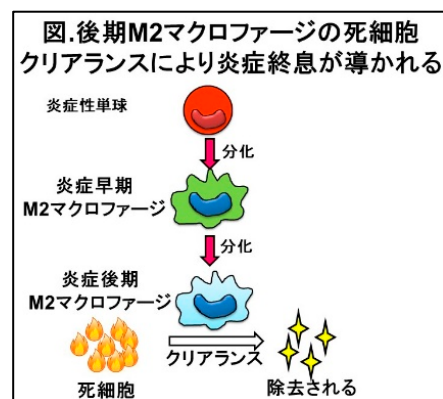
【方 法】

野生型マウスおよびCCR2欠損マウスにTNP特異的IgE抗体を静脈投与し、その翌日にアレルゲン(TNP-OVA)を皮内投与することによりIgE-CAIモデルを誘導する。炎症誘導後5日間毎日耳介厚を計測する。炎症誘導後3日目または5日目にIgE-CAIを誘導した耳介組織をフローサイトメトリーや免疫組織染色、シングルセルRNAシーケンス(scRNA-seq)解析により解析する。

【結 果】

先行研究からCCR2欠損マウスでは単球の皮膚炎症局所への浸潤が阻害されるため、炎症抑制型のM2マクロファージが皮膚炎症局所にほとんど認められないことが明らかになっている。実際に、CCR2欠損マウスにIgE-CAIを誘導したところ、野生型マウスと比較して持続的な強い耳介腫脹が誘導された。浸潤細胞について解析すると、CCR2欠損マウスでは好中球を中心とする著しい炎症細胞浸潤の増加が認められた。さらに皮膚炎症局所の病理像を解析したところ、CCR2欠損マウスでのみ好中球優位の白血球のクラスターがIgE-CAI炎症局所に認められることが明らかになった。TUNEL染色から、クラスター内には大量の死細胞が蓄積していることが解明された。好中球除去抗体(抗Ly6G抗体)やネクロシス阻害薬(RIPK1阻害薬:Nec-1s)をCCR2欠損マウスに投与すると、耳の腫れや炎症細胞浸潤が有意に減少することから、CCR2欠損マウスでは死細胞が蓄積することで好中球性の炎症増悪が認められると考えられた。

次に、M2 マクロファージによる炎症収束機構を解析する目的で IgE-CAI 炎症局所のシングルセル RNA-seq 解析を行った。その結果、炎症ピーク時に存在する早期 M2 マクロファージと炎症収束期に存在する後期 M2 マクロファージの両者が同定された。早期 M2 マクロファージでは *Arg1* や *Mrc1* などの遺伝子発現が高かった一方で、後期 M2 マクロファージでは死細胞貪食にかかわる *Gas6* や *Mertk* が高発現していた。そこで、IgE-CAI 炎症局所に蛍光ラベルした死細胞を投与し、貪食を行う細胞を検討したところ、マクロファージ分画の中でも後期 M2 マクロファージにおいて最も高い死細胞貪食能を示すことが明らかになった。さらに TAM 受容体阻害薬を野生型マウスに投与すると、耳の腫れや炎症細胞浸潤が有意に増加することが明らかになった。以上から、単球より分化した後期 M2 マクロファージが GAS6 や MERTK を介して速やかに死細胞を除去し、炎症収束を導くことが示唆された(図)。



【考 察】

本研究の結果から、M2 マクロファージが炎症局所に存在しない状況では、効率的に死細胞が除去できないため、2次的ネクロシスが起これば好中球性の炎症増悪が起こることが示唆された。さらにシングルセル RNA-seq 解析により炎症ピーク時と炎症収束期に存在する M2 マクロファージは遺伝子発現プロファイルが大きく異なっており、炎症後期に存在する M2 マクロファージが効率的に死細胞の貪食を行うことでアレルギー炎症を収束へと向かわせることが明らかになった。本研究により、IgE-CAI における炎症収束機構の一端が解明された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で行ったシングルセル RNA-seq 解析より、死細胞貪食能の極めて高い炎症後期 M2 マクロファージが同定でき、その遺伝子発現や細胞表面分子の発現を明らかにし、皮膚アレルギー炎症における役割を解明した。今後さらに早期 M2 から後期 M2 への分化制御機構が解明されれば、アトピー性皮膚炎をはじめとする皮膚アレルギー炎症疾患に対する新規治療標的の開発につながる可能性が極めて高い。さらに、このような死細胞貪食能の高い M2 マクロファージは様々な炎症性疾患の炎症収束にも関与する可能性があり、本研究の応用により好塩基球・IL-4 や M2 マクロファージの関与する種々の炎症性疾患の治療に貢献することが期待される。

【参考・引用文献】

1. Miyake K, Shibata S, Yoshikawa S, Karasuyama H. Basophils and their effector molecules in allergic disorders. *Allergy*. 2021;76(6):1693-1706.
2. Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Mukaida N, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4. *Immunity*. 2013;38(3):570-80.