

# 好酸球に発現する CD69 分子への刺激は、 好酸球の IL-10 産生増加と細胞死を誘導する

## 【本件のポイント】

- 活性化マーカーである CD69 分子を発現する好酸球<sup>※1</sup>では、制御性サイトカイン<sup>※2</sup>IL-10 の発現が増加していることを発見
- CD69 分子の刺激は、好酸球の IL-10 産生の増加と細胞死を誘導することが明らかに
- 炎症を制御する好酸球の存在が示唆され、好酸球性炎症の機序解明に期待

学校法人関西医科大学（大阪府枚方市 理事長・山下敏夫、学長・木梨達雄）医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座（主任教授・岩井大）の Dan Van Bui と Linh Manh Nguyen 大学院生、指導教員である同附属病院臨床検査医学センターの神田晃センター教授らの研究チームは、活性化マーカーの一つである CD69 分子を発現する好酸球では、抑制サイトカイン IL-10 の mRNA の発現が有意に増加していることを発見しました。さらに CD69 分子への刺激は、IL-10 産生の増加と細胞死を誘導することを明らかにしています。このことは、活性化好酸球には、炎症を増強する好酸球だけでなく、炎症を抑制する好酸球が存在することを示唆しており、好酸球性炎症における好酸球の機能的役割の解明が進むと期待されます。詳しい研究概要は次ページ以降の別添資料をご参照ください。

なお、本研究をまとめた論文が、『Biomolecules』（2023 インパクトファクター：4.8）に 2024 年 3 月 18 日付で掲載されました。

## ■ 書誌情報

|        |   |
|--------|---|
| 掲 載 誌  | 『Biomolecules』 DOI: <a href="https://doi.org/10.3390/biom14030360">https://doi.org/10.3390/biom14030360</a>   |
| 論文タイトル | CD69 Signaling in Eosinophils Induces IL-10 Production and Apoptosis via the Erk1/2 and JNK Pathways, respectively  |
| 筆 者    | Dan Van Bui, Linh Manh Nguyen, Akira Kanda, Hanh Hong Chu, Nhi Kieu Thi Le, Yasutaka Yun, Yoshiki Kobayashi, Kensuke Suzuki, Akitoshi Mitani, Akihiro Shimamura, Kenta Fukui, Shunsuke Sawada, David Dombrowicz, Hiroshi Iwai |

## 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

## 別添資料

### <本研究の背景>

好酸球性気道炎症の代表的な疾患として、難病に指定されている好酸球性副鼻腔炎が知られています。発症初期から嗅覚障害を認めることが多く、再発を繰り返すことを特徴としています。また、喘息を合併する頻度が高く、上気道と下気道にまたがった疾患としてとらえられています。治療法は、手術的加療による病巣部位の減量、ステロイドが主体となります。近年、生物学的製剤が開発され、本疾患に対してもその有効性が明らかになっています。病因はまだ明らかになっていませんが、アレルギー反応やアレルギーを介さない反応により、炎症局所に集積した「活性化好酸球」がその病態形成に深く関与することが明らかになっており、2型気道炎症と呼ばれるようになってきました。

白血球の活性化マーカーとして知られているCD69分子は、好酸球にも発現していることが知られています。私たちは、活性化していない血中好酸球の表面にはCD69分子の発現をほとんど検出することができませんでしたが、鼻茸<sup>\*3</sup>に集積した活性化好酸球にCD69分子が強く発現していることを明らかにしています。さらに、好酸球のCD69分子の発現量と臨床症状との間に相関があることを報告しています (Allergol Int. 2020, DOI: 10.1016/j.alit.2019.)。しかし、CD69分子が発現している好酸球 (CD69<sup>+</sup>好酸球) の分子生物学的特性とCD69分子刺激時に誘導される細胞内のシグナル伝達、サイトカイン産生能、生存能に関しては、ほとんど解明されていませんでした。そこで、好酸球に発現するCD69<sup>+</sup>好酸球の特性とCD69分子を介したシグナル伝達とその役割を解明することで、好酸球性炎症におけるCD69<sup>+</sup>好酸球の分子生物学的役割が明らかになれば、同分子をターゲットにした新しい生物学的製剤の開発につながることを期待されます。

### <本研究の成果>

#### 1. CD69陽性好酸球の特性

本研究では、ヒト末梢血中の活性化していない好酸球にはCD69分子をほとんど発現していない理由と炎症組織から実験に使用する十分な数のCD69<sup>+</sup>好酸球を単離することが難しい理由により、マウスを用いた検討を行っています。

まず、私たちは、CD69<sup>+</sup>好酸球がヒトと同様な分子生物学的動態を有しているかどうか検討を行いました。好酸球性気道炎症マウスモデル (野生型マウスに対してハウスダスト抗原で感作<sup>\*4</sup>し、肺にチャレンジ) の肺において、ヒトと同様にCD69<sup>+</sup>好酸球が存在していました。一方、同マウスの血液、健常マウスの血液と肺には、CD69<sup>+</sup>好酸球はほとんど認められませんでした。

しかし、野生型の好酸球性気道炎症マウスモデルから効率的に十分な数のCD69<sup>+</sup>好酸球を単離することが難しいため、好酸球増多マウス (IL-5トランスジェニックマウス<sup>\*5</sup>) から好酸球を単離し、検討

【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (佐脇・林)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

を行いました。同マウスでも血中にはCD69<sup>+</sup>好酸球は、ほとんど認めませんでした。組織中では、約15%の好酸球にCD69分子が発現していました。そこで、セルソーター<sup>※6</sup>を用いて、CD69<sup>+</sup>好酸球とCD69<sup>+</sup>好酸球に分離し、サイトカインやケモカイン<sup>※7</sup>の遺伝子発現量を比較検討しました。CD69分子は活性化好酸球のマーカのため、CD69<sup>+</sup>好酸球には、IL-4、IL-5、IL-13などの2型サイトカインが多く発現していると予測していましたが、炎症を抑制するIL-10が有意に発現していることが明らかになりました。このことは、CD69<sup>+</sup>好酸球は、炎症の火消し役として働くことを示唆する結果となりました。

## 2. 好酸球に発現するCD69分子の作用

CD69分子の分子生物学的な役割を明らかにするため、CD69分子を刺激する方法として、抗CD69抗体を用いたクロスリンキング<sup>※8</sup>を行い検討しました。好酸球へのCD69分子クロスリンキング刺激は、濃度依存的にIL-10の遺伝子発現およびタンパク質を誘導することが明らかになりました。さらに、同刺激は、好酸球の生存能が低下する結果となりました。つまり、好酸球に対するCD69分子の刺激は、炎症制御をする方向に働くだけでなく、好酸球を細胞死に誘導する作用があると明らかになりました。

## 3. 好酸球へのCD69分子刺激による細胞内シグナルの解明

好酸球におけるCD69分子を介したシグナル伝達経路に関しては、解明されていなかったため、ウェスタンブロッティング<sup>※9</sup>法を用いて検討を行いました。結果、CD69分子クロスリンキング刺激は、好酸球の細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK1/2：extracellular signal regulated kinase1/2）とc-Jun N末端キナーゼ（JNK：c-Jun N-terminal kinase）のリン酸化を誘導することが明らかになりました。さらに、ERKとJNK経路に対して特異的に作用する阻害剤で前処理し、検討を行ったところ、それぞれIL-10産生と細胞死が抑制される結果となりました。

### <本研究のまとめ>

本研究において、CD69<sup>+</sup>好酸球の特性とCD69分子クロスリンキング刺激の役割と細胞内シグナル伝達経路が明らかになりました。CD69<sup>+</sup>好酸球は、少なくとも、炎症を制御する方向に働くことが示唆される結果となりました。好酸球の役割に関しては、以前から善玉説と悪玉説が議論されてきましたが、病態形成に寄与する悪玉説の考えが主流となっています。一方、好酸球には様々な作用を有しており、サブタイプが存在することが明らかになっています。コンセンサスが得られているサブタイプとして、レジデント好酸球と誘導性好酸球が知られており、前者はホメオスターシスに寄与し、後者は炎症に寄与する好酸球であると考えられています（Allergol Int. 2021. DOI: 10.1016/j.alit.2020.11.001）。今回の私たちの結果から、誘導性好酸球の中に炎症促進型とCD69分子を発現する制御型のサブタイプが存在することを推察しています（図参照）。

### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

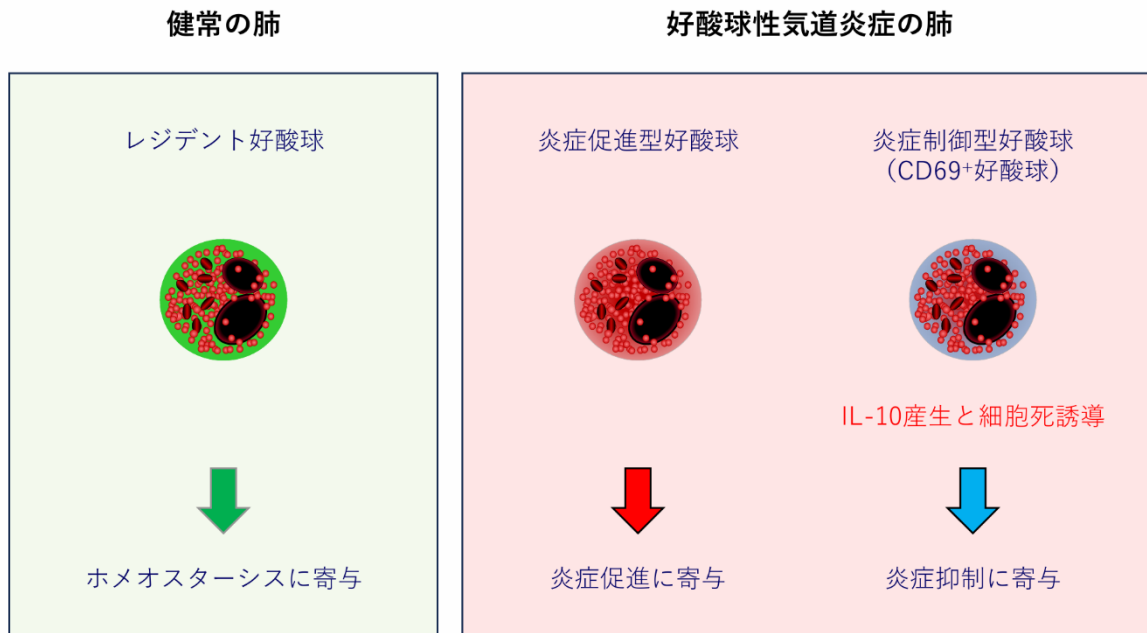


図 健常肺と好酸球性気道炎症肺における好酸球のサブタイプとその役割に関する仮説

#### <本研究の課題と展望>

CD69分子に対するナチュラルリガンド(生体内に本来備わっている特異的に結合する物質)として、ガレクチン1 (Gal-1) とミオシンライトチェーン9/12 (Myl-9/12) が発見されています。活性化したCD69陽性リンパ球に対して、Gal-1で刺激すると好酸球と同様にIL-10が誘導され、制御的に作用するとの報告がある一方、Myl-9/12で刺激すると炎症を増悪する方向に働くとの報告もあり、結論に至っていません。その理由として、CD69分子への親和性の違いなどが考えられています。

CD69分子を介したシグナル伝達に関しては、リンパ球へのCD69分子クロスリンキング刺激は、JAK-STATシグナル伝達経路において、Jak3/STAT5のリン酸化を誘導するとの報告があります。一方で、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)では、好酸球と同様にErk1/2のリン酸化を誘導しており、細胞間での違いも明らかになっています。

今回の研究成果は、好酸球性気道炎症に対するCD69をターゲットにした新しい治療戦略開発に向けた一助になると期待されます。しかし、その分子生物学的役割に関しては、十分に解明されておらず、明らかにしなくてはならない課題が山積しています。引き続き本研究を遂行し、創薬に向けた研究活動と内容を発信していく予定です。

#### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室 (佐脇・林)

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp

## 用語解説

### ※1 好酸球

白血球細胞の一つであり、寄生虫、細菌、ウイルスなどの病原微生物を排除する生体防御機能を有している。一方、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアレルギー反応の病態形成に重要な役割を果たしていることが知られている。

### ※2 サイトカイン

細胞などから分泌される生理活性物質であり、細胞間相互作用に関与する。分泌されたサイトカインは、細胞に発現している受容体を介して、細胞間情報伝達を行う化学伝達物質である。

### ※3 鼻茸

慢性副鼻腔炎において、鼻・副鼻腔内のポリープ状の隆起病変を示す。垂れ下がったポリープがキノコ状に見えることから鼻茸と呼ばれている。鼻茸が増悪すると鼻閉や嗅覚障害が出現する。

### ※4 感作

食物、花粉、ダニなどの抗原（アレルゲン）に対する特異的 IgE 抗体が体内で産生された状態を示す。感作が成立した後、抗原に暴露するとアレルギー反応が誘導される。

### ※5 IL-5 トランスジェニックマウス

好酸球の分化・増殖に重要な役割を果たす IL-5 を強制的に発現させた遺伝子改変マウスの名称。このマウスの体内には、好酸球が増多となっており、多くの好酸球を容易単離することができるため、好酸球の *in vitro* 実験で用いられている。

### ※6 セルソーター

細胞を選択的にソートし、分離するための装置。

### ※7 ケモカイン

白血球などの遊走を誘導するサイトカインの一種である。

### ※8 クロスリンキング

ある分子に対して、特異的な抗体で処理した後、2次抗体で架橋形成し、刺激を誘導する方法。

#### 【本件取材についてのお問合せ】

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp



リリース先：大阪科学・大学記者クラブ、文部科学記者会、  
科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ

2025年1月24日

No.000240



**PRESS RELEASE**

**※9 ウェスタンブロットイング**

検体から抽出したタンパク質を電気泳動法によって分離し、膜に転写した後、抗体を用い特定のタンパク質を検出する方法。

**<本件研究に関するお問合せ先>**

学校法人関西医科大学

附属病院臨床検査医学センター センター教授

神田 晃

大阪府枚方市新町 2-3-1

TEL：072-804-0101（代表）

E-mail：akanda@hirakata.kmu.ac.jp

**【本件取材についてのお問合せ】**

学校法人 関西医科大学 広報戦略室（佐脇・林）

〒573-1010 大阪府枚方市新町2-5-1

電話：072-804-2128 ファクス：072-804-2638 メール：kmuinfo@hirakata.kmu.ac.jp