



Increased serum IL-17A and Th2 cytokine levels in patients with severe uncontrolled asthma

Hasegawa, Takehiro

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2017-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7027号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007027>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



学位論文の内容要旨

Increased serum IL-17A and Th2 cytokine levels in patients with severe uncontrolled asthma

重症難治性喘息患者における血清中 IL-17A ならびに Th2 サイトカイン濃度の上昇

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
システム病態生物学

(指導教員：浅野 茂隆（客員教授）)

長谷川 武宏

【要旨】

序論

喘息は、可逆性の気道閉塞や気道過敏性、喘鳴を特徴とする炎症性の慢性呼吸器疾患である。この疾患はこれまで、単一の疾患とみなされてきたが、近年の研究では病態生理学的に異なる疾患から構成される症候群であることが示唆されている。また、クラスター解析などの手法により、いくつかの臨床的あるいは生理学的指標をもとに分類した患者群の間に治療応答性の違いがあることが示唆された。このような、病態生理学的に異なる喘息患者群は、近年「Endotype」と定義され、分類指標として抗原特異的 IgE、喀痰中好酸球、呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) などが提案されてきた。

一方、免疫学的研究から、サイトカインは炎症性因子として喘息の病態生理において重要な役割を担っていることが知られている。例えば、IL-4 や IL-5 等の Th2 サイトカインは、IgE へのクラススイッチを誘導し、好酸球を活性化する。また、同じく Th2 サイトカインである IL-13 は、気道杯細胞の分化や、纖維芽細胞の活性化、気道過敏性亢進に寄与する。さらに、CCR6 陽性の CD4 陽性細胞 (Th17) 細胞から産生される IL-17 は、炎症惹起性サイトカイン (pro-inflammatory cytokine) として IL-6 や IL-8 の産生を誘導し、喘息の病態における好中球性炎症に関与していることが示唆されている。しかし、これらの検討の多くは、動物実験やリンパ球の *ex vivo* 培養における検討結果に立脚しており、実際の臨床検体にもとづいて、炎症病態や Endotype 分類を検討した知見は少ない。

本研究では、喘息患者の血清サイトカインについて検討し、IL-17A や Th2 サイトカインと喘息の炎症病態との関係、特にステロイド抵抗性の重症難治性喘息患者の炎症病態との関係について考察した。

方法

国立病院機構 相模原病院の喘息患者 77 名と健常コントロール 34 名の血清について 24 種類のサイトカイン/ケモカイン等の因子を化学発光 ELISA 法にて測定した。喘息患者のコントロール状態は Japanese Asthma Prevention and Management guidelines 2009 に基づき、コントロール良好群 (33 名) とコントロール不良群 (44 名) に分類した。統計解析には対数変換後のサイトカイン測定値を用い、有意水準は $P=0.05$ とした。

結果

1. 喘息患者における血清サイトカインの上昇

24 因子の中で IL-6, IL-8, IL-13, IL-16, HGF, TSLP, IL-1RA, MIF 及び MIP-1 α の 9 因子が喘息患者において有意に高値となり、IL-4, HGF, SCF, Ang-2 の 3 因子が有意に低値となった。次に、喘息患者群をコントロール良好患者と不良群に分類し、血清サイトカイン濃度を比較したところ、IL-17A がコントロール不良患者にて有意に高値 ($p=0.002$) であった。

2. 重症難治性喘息患者における IL-17A 血清濃度の上昇

上記のようにコントロール不良患者では血清 IL-17A 濃度の有意な上昇が認められたため、喘息病態と IL-17A との関係についてさらに検討を進めた。採血行った時点からその後 12 ヶ月以内の全身ステロイド投与が必要となる重症発作の発症歴と救急外来 (ER) 受診歴を検討した。重症発作発症歴のあった患者では血清 IL-17A 濃度が有意に高値であった ($p=0.011$)。また、ER 受診歴があった患者群でも IL-17A は、有意ではないが高値の傾向が認められた。

また、患者群を治療ステップや吸入ステロイド (ICS) 投与量により層別化し、さらにコントロール不良及び良好群の間で比較したところ、治療ステップが高いコントロール不良患者群（臨床的重症群）にて特に IL-17A の血清濃度が高値となる傾向が認められた。しかし、IL-17A と呼吸機能の低下 (%FEV1) との有意な相関は認められなかった。

患者を、血清 IL-17A 濃度により上位 75% を高値群 ($n=20$)、下位 25% を低値群 ($n=47$) に層別化し、両群間で比較したところ、IL-17A 高値群では、コントロール不良患者 ($p=0.004$)、12 ヶ月以内の全身ステロイド使用履歴のある患者 ($p=0.006$)、12 ヶ月以内の ER 受診歴のある患者 ($p=0.042$) 群の比率がそれぞれ有意に多かった。

3. Th2 サイトカインと IL-17A 血清濃度の相関

次に、喘息患者において IL-17A と他のサイトカインの濃度の相関について検討した。IL-17A の間に有意な正相関が認められたのは、IL-4 ($P<0.001$)、IL-9 ($P=0.022$)、IL-25 ($P=0.022$) などの Th2 サイトカイン及び Pro Th2 cytokine、IFN- γ ($P<0.001$)、及び IL-10 ($P<0.001$) であり、これらの相関関係はコントロール不良喘息患者群において特に顕著であった。

次に、Th2 サイトカインの多くが IL-17A と相関を示したことから、Th2 型の喘息病態であるアトピー性喘息における上記のサイトカイン濃度を検討した。アトピー性喘息患者群では非アトピー性患者群と比較して、IL-4 ($P=0.01$)、IL-9 ($P=0.04$)、IL-25 ($P=0.001$) 及び IFN- γ ($P=0.002$) 濃度が有意に高値であったが、IL-17A および IL-10 には有意差はなかった。

4. 重症難治性喘息患者における血清 IL-17A 濃度

IL-17A 及び相関する 5 種類のサイトカイン濃度により患者を階層クラスター解析したところ、4 群のクラスターに分けることができた。4 群の病態（治療ステップ、コントロール状態、12 ヶ月以内の重症発作歴ほか）を比較したところ、6 種類のサイトカインすべてが高値であった群は、すべての患者が高容量のステロイド治療を受けていたが、コントロール不良であり、75% の症例が 12 ヶ月以内に全身ステロイド投与が必要となる重症発作を発症していた。

考察

喘息の病態と炎症因子との関連を検討するためには、原理的には、主病巣である気道組織の検討を行うことが最適である。しかし、喘息患者の日常臨床において、気道組織生検や喀痰誘発法による検体採取は実際的な検査手法ではない。他方、末梢血中のサイトカイン濃度は、T 細胞に限らず、さまざまな細胞組織からの産生を反映したものであり、血中への放出や分解の影響を受けることは考慮しなければならないが、検体採取や測定が比較的簡便であり、時系列検討が可能である。

本研究では、喘息患者の血清サイトカイン濃度を測定し、喘息患者の Endotype との関係を検討した。既報では、Wenzel らは、喘息にはアトピー性喘息など Th2 型炎症が亢進している Th2-High 型喘息と Th2-Low 型喘息があり、前者の患者群では吸入ステロイド薬 (ICS) への感受性が高く、他方、後者の患者群では、気道組織の好中球性炎症が強く ICS 抵抗性の難治性喘息が含まれるとしている。IL-17A は Th17 や ILC3 細胞などが産生する好中球遊走性サイトカインである。本研究において末梢血中の IL-17A 濃度が高い喘息患者群は重症難治性患者が多く、高容量の ICS によってもコントロール不良であることは、これらの知見と一致する結果である。

動物モデルにおいて、IL-17A の存在は Th2 型炎症を増悪させ、ステロイドの治療効果を減弱し、気道組織の纖維化を促進することが知られている。また、既報文献でも、Th2/Th17 混合型細胞が気道洗浄液 (BALF) から検出される患者は、気道への白血球遊走や喘息の重症化と関係していることが報告されている。さらに、喀痰中細胞の遺伝子発現解析でも、IL-5、IL-17A、IL-25 が高発現の患者群はコントロール不良患者が多いことが報告されている。一方、Th1 型サイトカインである IFN- γ も慢性重症喘息患者の気道上皮や末梢血において増加していることも知られている。従って、Th2 型、IFN- γ (Th1 型)、および IL-17A の全ての型のサイトカインが高値となる患者群が、難治性の重症喘息患者群であったという本研究の結果が上記の報告と一致していると考えられる。

しかし、慢性重症喘息患者において IL-17A などと共に高値である IL-10 は、Treg や MSC などを誘導し単球などの機能を抑制する免疫抑制性サイトカインである。IL-10 が高値であるという結果は、他の炎症性疾患や感染症などと同様に、難治性喘息患者で起きていたる炎症反応を抑制しようとしている免疫抑制機序の反映である可能性がある。

本研究では、血清サイトカインによる階層クラスター解析によって、喘息患者を異なる病態を有する Endotype に分類した。最重症群の患者では、高容量の ICS 治療でもコントロール不良であった。本研究の血清中の多項目サイトカイン解析によって見出された Endotype は、病態や治療応答性を反映しており、喘息患者の個別化診断と治療に貢献できる可能性がある。（3704 字/4000 字）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2720 号	氏名	長谷川 武宏
論文題目 Title of Dissertation	重症難治性喘息患者における血清中 IL-17A ならびに Th2 サイトカイン濃度の上昇 Increased serum IL-17A and Th2 cytokine levels in patients with severe uncontrolled asthma		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner 藤信 肇太雄	副査 Vice-examiner 高博信	副査 Vice-examiner 西村 善博

(要旨は1,000字~2,000字程度)

【序論】

喘息は、可逆性の気道閉塞や気道過敏性、喘鳴を特徴とする炎症性の慢性呼吸器疾患である。近年の研究では病態生理学的に異なる疾患から構成される症候群であり、患者群は「Endotype」と定義され、分類指標として抗原特異的 IgE、喀痰中好酸球、呼気一酸化窒素濃度(FeNO)などが提案されている。

サイトカインは喘息の病態生理において重要な役割を担っている。例えば、IL-4 や IL-5 は、IgE へのクラススイッチを誘導し、好酸球を活性化する。IL-13 は、気道杯細胞の分化や、纖維芽細胞の活性化、気道過敏性亢進に寄与する。IL-17 は、炎症惹起性サイトカインとして IL-6 や IL-8 の産生を誘導し、喘息の病態における好中球性炎症に関与している。しかし、実際の臨床検体にもとづいてサイトカインから Endotype 分類を検討した知見はない。

本研究では、喘息患者の血清サイトカインを測定し、IL-17A や Th2 サイトカインと喘息の炎症病態との関係、特にステロイド抵抗性の重症難治性喘息患者との関係明らかにすることを目的とした。

【方法】

国立病院機構相模原病院の喘息患者 77 名と健常コントロール 34 名の血清について 24 種類のサイトカイン/ケモカイン等の因子を化学発光 ELISA 法にて測定した。喘息患者のコントロール状態は Japanese Asthma Prevention and Management guidelines 2009 に基づき、コントロール良好群(33 名)とコントロール不良群(44 名)に分類した。統計解析には対数変換後のサイトカイン測定値を用い、有意水準は $P=0.05$ とした。

【結果】

1. 喘息患者における血清サイトカインの上昇

24 因子の中で IL-6, IL-8, IL-13, IL-16, HGF, TSLP, IL-1RA, MIF 及び MIP-1 α の 9 因子が喘息患者において有意に高値となり、IL-4, HGF, SCF, Ang-2 の 3 因子が有意に低値となった。IL-17A がコントロール不良患者にて有意に高値($p=0.002$)であった。

2. 重症難治性喘息患者における IL-17A 血清濃度の上昇

重症発作発症歴のあった患者では血清 IL-17A 濃度が有意に高値であった($p=0.011$)。また、ER 受診歴があった患者群でも IL-17A は、高値の傾向が認められた。また、治療ステップが高いコントロール不良患者群(臨床的重症群)で IL-17A の血清濃度が高値となる傾向が認められた。IL-17A 高値群では、コントロール不良患者($p=0.004$)、12 ヶ月以内の全身ステロイド使用履歴のある患者($p=0.006$)、12 ヶ月以内の ER 受診歴のある患者($p=0.042$)群の比率がそれぞれ有意に多かった。

3. Th2 サイトカインと IL-17A 血清濃度の相関

IL-17A の間に有意な正相関が認められたのは、IL-4 ($P<0.001$)、IL-9 ($P=0.022$)、IL-25 ($P=0.022$) などの Th2 サイトカイン及び Pro Th2 cytokine、IFN- γ ($P<0.001$)、

及び IL-10 ($P<0.001$) であり、これらの相関関係はコントロール不良喘息患者群において特に顕著であった。

IL-17A 及び相関する 5 種類のサイトカイン濃度により患者を階層クラスター解析したところ、4 群のクラスターに分けることができた。6 種類のサイトカインすべてが高値であった群は、すべての患者が高容量のステロイド治療を受けていたが、コントロール不良であり、75% の症例が 12 ヶ月以内に全身ステロイド投与が必要となる重症発作を発症していた。

【考察】

本研究では、血清サイトカインによる階層クラスター解析によって、喘息患者を異なる病態を有する Endotype に分類した。最重症群の患者では、高容量の ICS 治療でもコントロール不良であった。本研究の血清中の多項目サイトカイン解析によって見出された Endotype は、病態や治療応答性を反映しており、喘息患者の個別化診断と治療に貢献できる可能性がある。

本研究は、気管支喘息における血清サイトカインと治療反応性予測を研究したものであるが、従来明らかでなかった血清 IL-17 を含む新規 endotype の気管支喘息の治療反応性における役割について重要な知見を得たものとして価値ある集積である。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。