

令和元年6月7日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15721

研究課題名(和文) IL-15産生性免疫微小環境による免疫担当細胞の制御と生体防御機構

研究課題名(英文) Regulation of immune microenvironment by IL-15-expressing cells in vivo

研究代表者

崔 广为 (Cui, Guangwei)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・助教

研究者番号：70791276

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：免疫組織はリンパ球と免疫微小環境からなり、免疫微小環境は様々なストローマ細胞から構成されている。ストローマ細胞はインターロイキン15(IL-15)などのサイトカインを産生し、免疫系の制御に大きな役割を担っている。本研究は、IL-15産生性免疫微小環境に注目し、IL-15コンディショナルノックアウトマウスなどのIL-15関連マウスモデルを独自に作製した。よって、生体内の胸腺、骨髄、リンパ節、肝臓および腸管におけるIL-15産生性免疫微小環境による免疫細胞の分化、成熟、維持および機能の制御機構を明らかにした。さらに、抗がん免疫に胸腺内IL-15産生性免疫微小環境も重要であることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インターロイキン15(IL-15)は免疫細胞に重要な働きをしている。本研究において、IL-15コンディショナルノックアウトマウスなどを独自に作製した。これらのIL-15関連マウスモデルを用い、生体内の様々な組織におけるIL-15産生性免疫微小環境の局所機能を明らかにした。また、抗がん免疫機能について、胸腺内IL-15産生性免疫微小環境も重要であることを示唆した。本研究によって、IL-15による免疫細胞の制御機構および生体防御機構に対する新たな知見を得ることができた。がんや慢性炎症、自己免疫疾患などに対するIL-15を標的とする治療薬や治療法の開発に有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-15 (IL-15) is an important cytokine for development and homeostasis of the immune system, and we previously identified a variety of IL-15-expressing cells in vivo. However, the local functions of these IL-15-expressing cells is poorly understood. To address this question, we established eleven types of IL-15 conditional knock out (ckO) mice. This study revealed the local function of IL-15-expressing cells in thymus, bone marrow, lymph node, liver and intestine by using these IL-15 ckO mice. IL-15-expressing cells contribute to the development, maturation, homeostasis and response of immune cells in vivo. Furthermore, IL-15-expressing cells in thymus also contribute to the anti-tumor immunity.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫微小環境 サイトカイン インターロイキン15 NKT細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫組織はリンパ球と免疫微小環境からなり、免疫微小環境は様々なストローマ細胞から構成されている。ストローマ細胞はサイトカインなどを産生し、リンパ球の分化、成熟、維持、そして応答に大きな役割を担っている。このサイトカインの一つにインターロイキン15 (IL-15) があり、免疫細胞の分化、成熟、維持および機能に重要な働きをしている。しかしながら、生体内におけるIL-15産生細胞の実態については長く不明のままであった。まずはIL-15遺伝子座に蛍光タンパク質CFP 遺伝子をノックインしたマウス (IL-15-CFPノックインマウス) を独自に作製して解析した。その結果、生体内のIL-15産生性ストローマ細胞を初めて同定し、その特徴的な分布と発現様式を明らかにした。IL-15は胸腺、骨髄、リンパ節、脾臓、肝臓、腸管などの組織において様々なストローマ細胞から産生されていた。続いて、申請者は、IL-15産生性ストローマ細胞の局所機能を明らかにすることに取り組むことにした。

2. 研究の目的

本研究は、独自に作製した組織特異的IL-15遺伝子破壊マウス (IL-15 cK0 マウス) を用いて、IL-15 産生性免疫微小環境による免疫担当細胞の分化・成熟・維持ならびに生体防御の制御機構を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) IL-15-floxマウスを作製し、様々なCreマウスと交配することで、各組織特異的IL-15遺伝子破壊マウス (IL-15 cK0) マウスを作製した。

(2) 定常状態下にて各IL-15 cK0マウスを用い、T細胞、NKT細胞、NK細胞、樹状細胞など免疫細胞の分化、成熟、維持に与える影響をFACSにて比較し、変化が見られた細胞集団を単離し、重要な遺伝子のmRNAレベルを定量的PCRにて解析した。さらに、免疫担当細胞の分布変化やIL-15産生性ストローマ細胞との位置関係を、これまで作製したIL-15-CFPノックインマウスを用いて免疫組織化学にて解析した。

(3) 胸腺上皮特異的なIL-15 cK0マウスにB16F10メラノーマを投与し、がん転移の抑制機能を評価した。腸管上皮特異的IL-15 cK0マウスに急性腸炎を誘導し、症状経過を観察した。また、免疫組織化学にて腸管上皮細胞を解析し、腸内細菌叢の変化を比較した。

4. 研究成果

(1) 胸腺上皮細胞特異的IL-15 cK0マウスを作製し、胸腺髄質内のIL-15産生性免疫微小環境がiNKT細胞の分化に重要であることを明らかにした。さらに、申請者は成熟iNKT細胞を新たに2B4-CXCR6⁻ iNKT細胞、2B4-CXCR6⁺ iNKT細胞および2B4-CXCR6⁺ iNKT細胞に分画できることを発見した。胸腺上皮細胞特異的IL-15 cK0マウスでは、胸腺内の2B4-CXCR6⁺ iNKT細胞がある程度の減少

が見られたが、末梢組織においてはほぼ正常まで回復した、一方、2B4+CXCR6+ iNKT細胞が胸腺および末梢組織においてほぼ消失していた。さらに、胸腺上皮細胞特異的IL-15 cK0マウスにてB16メラノーマを移植する実験的肺移転モデルを用いた解析では、末梢組織におけるがん細胞の転移巣が著しく増加した。よって、胸腺内IL-15産生性免疫微小環境が2B4+CXCR6+ iNKT細胞の制御を介して、抗がん免疫に重要な役割を果たしている可能性を示唆した。

(2) 骨髄において、ストローマ細胞や血球細胞などでIL-15遺伝子がそれぞれ破壊されるIL-15 cK0マウスを解析し、ストローマ細胞より血球細胞由来のIL-15がNK細胞の骨髄内分化に重要であることを明らかにした。

(3) リンパ節内ストローマ細胞特異的IL-15 cK0マウスを解析し、リンパ節内のIL-15産生細胞がILC1の維持と機能に重要であることを示唆した

(4) 肝細胞特異的IL-15 cK0マウスを解析し、肝臓内NK細胞に影響が見られなかったが、1型自然リンパ球(ILC1)の分化に関与していることを示唆した。また、肝臓内IL-15産生性免疫微小環境が肝臓の線維化にも関与している可能性を見出した。

(5) 腸管において、腸上皮細胞特異的および血球細胞特異的IL-15 cK0マウスを解析し、腸管上皮細胞由来のIL-15が腸上皮間リンパ球の成熟と疲弊を制御していることを明らかにした。また、腸内IL-15産生性免疫微小環境が急性腸炎の経過にも関与している可能性を見出した。さらに、腸内細菌叢の維持は腸管上皮細胞由来のIL-15による影響がないことを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1) Shimba A, Cui G, Tani-ichi S, Ogawa M, Abe S, Okazaki F, Kitano S, Miyachi H, Yamada H, Hara T, Yoshikai Y, Nagasawa T, Schuetz G, and Ikuta K: Glucocorticoids Drive Diurnal Oscillations in T Cell Distribution and Responses by Inducing Interleukin-7 Receptor and CXCR4. *Immunity*, 48;286-298, 2018. (査読有)

〔学会発表〕(計 6 件)

(1) Zhu, Y, Cui G, Shimba, A, Abe, S, Hara, T, Tani-ichi, S, and Ikuta, K. Intestinal epithelial cell-derived IL-15 supports the homeostasis of intraepithelial lymphocytes. 第47回日本免疫学会総会・学術集会, 2018年12月.

(2) Asahi, T, Shimba, A, Cui G, Abe, S, Zhu, Y, Ejima, A, Takami, D, Tani-ichi, S, and Ikuta, K. Local IL-15 dependency of liver-resident ILC1. 第47回日本免疫学会総会・学術集会, 2018年12月.

(3) Abe, S, Hara, T, Cui G, Asahi, T, and Ikuta, K. Hematopoietic cell-derived IL-15 supports the development and maintenance of NK, NKT and memory CD8 T cells in bone marrow. 第47回日本免疫学会総会・学術集会, 2018年12月.

(4) Cui G, Shimba, A, Tani-ichi, S, and Ikuta, K. Competition between STAT5 and PI3K of

the IL-7R modulates T cell development and homeostasis. 25th East Asia Joint Symposium on Biomedical Research, 2018 年10 月.

(5) 崔 广為、生田 宏一. 胸腺内IL-15 産生性免疫微小環境の機能解析. 第28 回Kyoto T Cell Conference. 2018 年6 月.

(6) Cui, G, Shimba, A, Tani-ichi, S, and Ikuta, K. Competition between STAT5 and PI3K of the IL-7R modulates T cell and type 2 ILC development in vivo. 第46 回日本免疫学会総会・学術集会, 2017 年12 月.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 生田 宏一

ローマ字氏名 : IKUTA, Koichi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。