

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18329

研究課題名（和文）活性化2型自然リンパ球に発現するCD69の分子機能的役割の解明

研究課題名（英文）Functional role of CD69 expressed on activated ILC2

研究代表者

阪本 大樹（SAKAMOTO, Daiki）

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：80809997

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：研究成果の概要(和文):好酸球性副鼻腔炎(Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis: ECRS)は、鼻内に炎症組織として好酸球が高度に浸潤する鼻茸を有し、高頻度に喘息を合併する難治性疾患である。獲得免疫系細胞のみならず、自然免疫系細胞もECRSの疾患の病態形成に大きく寄与していると報告されている。今課題の研究成果として、ECRS鼻茸組織中で自然免疫系細胞である2型自然リンパ球(ILC2)が血球系活性化マーカーであるCD69を高発現し、ECRSの鼻症状や呼吸器症状の重症度とCD69の発現量が相関することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ECRSは難治性の好酸球性炎症性疾患で指定難病となっており、その疾患メカニズムや治療法の解明は現在の最重要課題である。本研究の結果より、血球系の活性化のマーカーとして用いられているCD69は2型自然リンパ球の活性化の指標として有用であり、症状の重症度に強く関連していることがわかった。CD69は過去の報告では、T細胞や好酸球において、活性化マーカーとしてのみならず、炎症抑制や炎症遷延に関与していると報告されている。このCD69を通じて、免疫細胞の活性化のコントロールが可能と考えられ、新しい治療ターゲットとなると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) is an eosinophilic inflammatory disease with a high infiltration of eosinophils in the nasal polyps, and is highly associated with asthma. It has been reported that not only immune cells of the acquired immune response but also cells of the innate immune response contribute significantly to the pathogenesis of ECRS. In this study, we found that innate lymphocytes type 2, an innate immune response cell in ECRS nasal polyps, highly express CD69, a activation marker of the white blood cell, and that the severity of nasal and respiratory symptoms of ECRS is correlated with the expression level of CD69.

研究分野：好酸球性副鼻腔炎

キーワード：ILC2 CD69 好酸球性副鼻腔炎

1．研究開始当初の背景

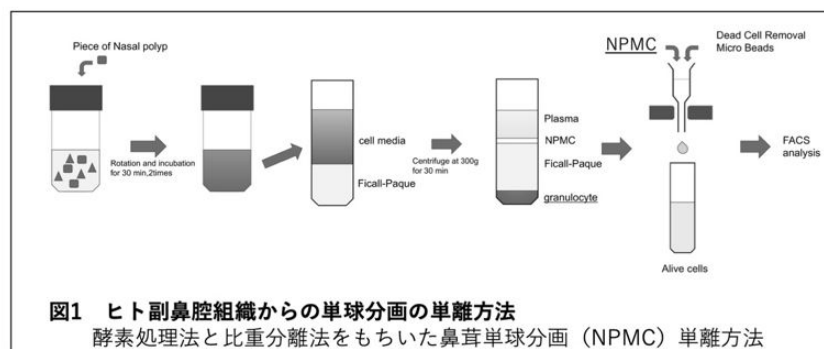
好酸球性副鼻腔炎(Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis:ECRS)は、高頻度に喘息を合併し、活性化好酸球が高度に浸潤する鼻茸を有する難病指定疾患である。その疾患メカニズムや治療法の解明は現在の最重点課題である。報告者らの研究グループではこれまでに、鼻茸組織中の活性化好酸球が血球系活性化マーカーであるCD69を高発現すること、並びに、好酸球におけるCD69発現の増強とECRSの重症度が相関することを見出した。以上の結果は、CD69発現を抑制することによりECRSを制御できる可能性を示唆する。近年、多量のTh2サイトカインを放出し、好酸球を活性化させる2型自然リンパ球(Group2 innate lymphoid cells:ILC2)が、ECRSに深く関与していることが報告された。さらに鼻茸組織には末梢血と比べて、多くのILC2が存在していることが明らかとなっている。しかし、鼻茸組織中ILC2におけるCD69発現とその分子機能的役割はいまだ解明されていなかったため、鼻茸組織中ILC2に発現するCD69の制御によるECRSへの新たな治療方法の開発を目指し研究をおこなった。

2．研究の目的

本研究では、同一の患者の炎症局所から単離した組織中ILC2と末梢血中ILC2を用いて、CD69分子の分子機能的役割の解明と、活性化制御に向けた新たな分子標的薬の開発につながるマイルストーンになる研究となることを目的とした。

3．研究の方法

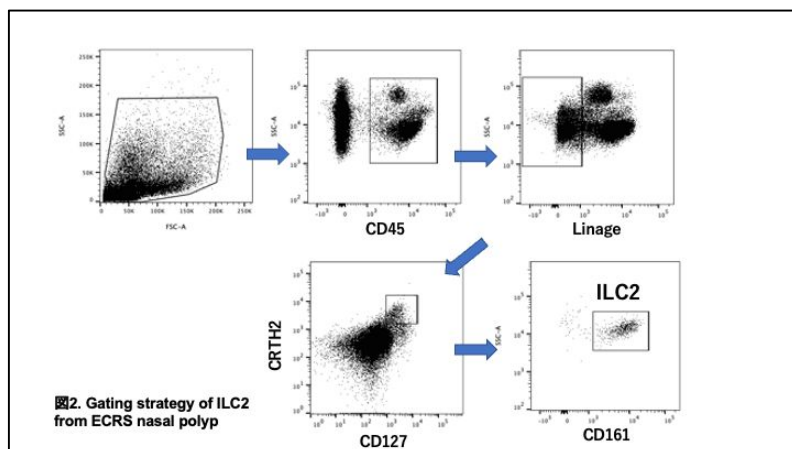
CD69が実際にECRS患者のILC2に発現しているのかどうかを、同一患者の末梢血および組織を用いて解析した。患者組織から高純度でILC2を単離するために、ECRS患者からの鼻茸組織を、酵素を用いて細胞分離をおこなったのち、比重分離法を用いて単球分画を分離した(図1)。その後、各種の蛍光抗体にて染色し、Flow cytometerをもちいて鼻茸組織単球分画に含まれるILC2をLin-CD45+CD294+CD161+CD127+として、ILC2をGatingし、cell sorterにて細胞単離をおこなった。この方法によって高純度でILC2をECRS鼻茸組織から単離することが可能となり、末梢血ILC2とともにCD69の発現をFlow cytometerをもちいて平均蛍光強度(MFI)を測定した。



4．研究成果

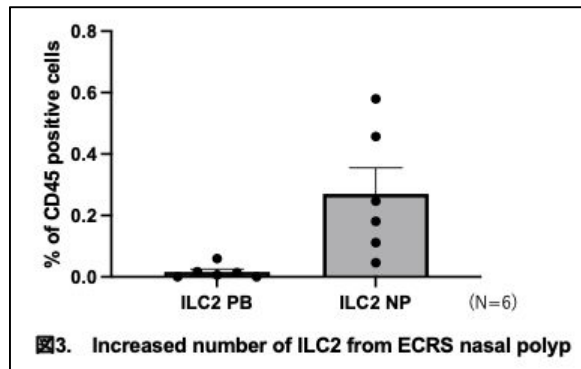
1.ECRS 鼻茸組織中に ILC2 は存在する

鼻茸組織単球分画に含まれるILC2をLin-CD45+CD294+CD161+CD127+として、Gatingした(図2)。



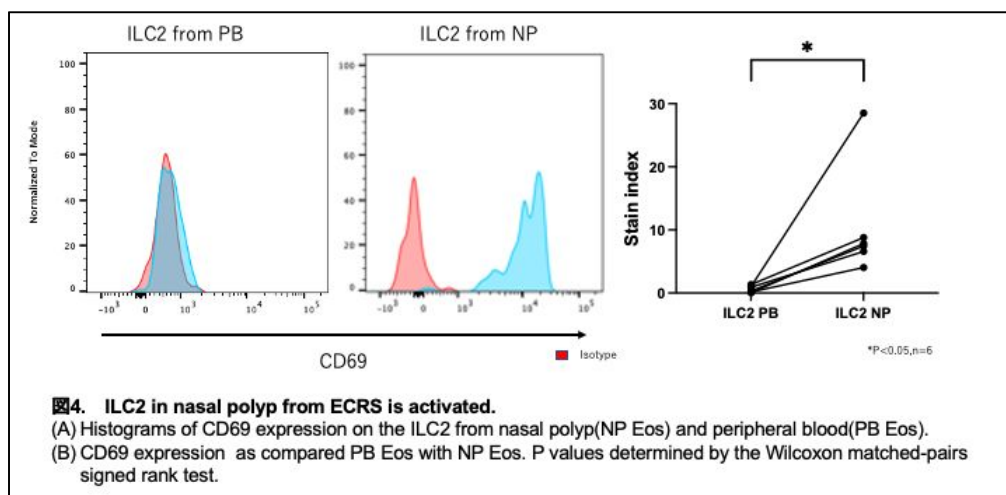
2. ECRS 鼻茸組織中 ILC2 は末梢血 ILC2 と比較して増加している。

ECRS の鼻茸組織に浸潤した ILC2 は、同一患者の末梢血 ILC2 と比較して、増加している結果であった (図 3)。



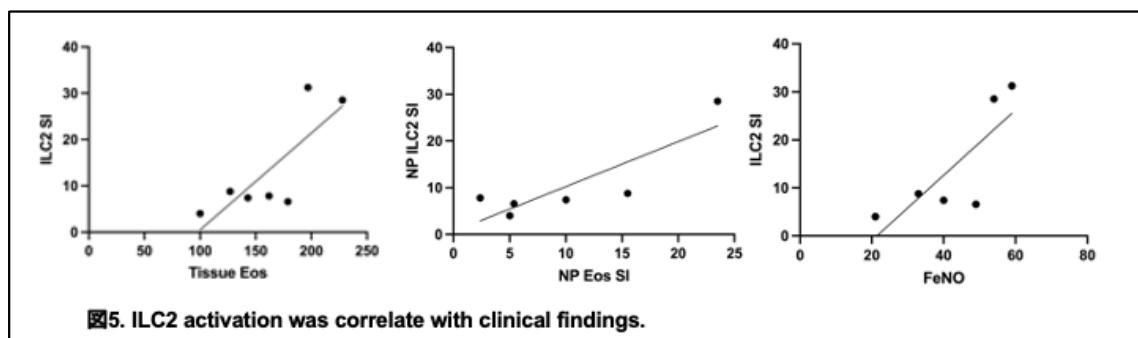
3. 組織に移行した ILC2 は CD69 を発現し活性化している。

Flow cytometer による CD69 の蛍光強度である MFI 発現が増強している結果であった (図 4)。



3. 活性化 ILC2 の CD69 発現量は疾患の重症度と相関する。

ECRS の上気道炎症の重症度の評価として、鼻茸組織への好酸球浸潤数と鼻茸組織中好酸球の CD69 の発現量の数値を使用した。下気道炎症の重症度の評価としては、呼気一酸化窒素値 (FeNO) を解析に用いた。結果、組織中 ILC2 の発現する CD69 の MFI 発現量に比例して、組織中に浸潤する好酸球数と好酸球に発現する CD69 の MFI 発現量と正の相関が得られ、上気道炎症との相関がみられた。また、FeNO 値とも正の相関が認められ、下気道炎症の増悪にも相関している結果がえられた。(図 5)。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 尹 泰貴、神田 晃、小林 良樹、阪本 大樹、嶋村 晃弘、朝子 幹也、岩井 大
2 . 発表標題 好酸球性副鼻腔炎組織中のILC2の存在とその活性化
3 . 学会等名 日本鼻科学会総会
4 . 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------