

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293110

研究課題名(和文) ナチュラルヘルパー細胞の分化機構解明

研究課題名(英文) Differentiation of innate lymphoid cells

研究代表者

茂呂 和世 (Kazuyo, Moro)

国立研究開発法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：90468489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、骨髄で分化すると考えられてきたILC2の分化機構が、体積期に肝臓に存在するCLPが全自然リンパ球前駆細胞へと分化し、その後末梢組織に移動することで特殊なストローマ細胞と出会い、成熟ILC2へと分化することが明らかにした。また、その分化にはIL-7とNotchシグナル、STAT5シグナルが重要であることも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this project, we found that the concentration of IL-7 differentially regulates T cell and ILC2 differentiation. Furthermore, to clarify the microenvironment that supports ILC2 development, we identified ILC progenitors and immature ILC2 in the fetal mesentery. We also showed by transplantation analysis that mesentery functions as a site that induces differentiation of mature ILC2.

研究分野：自然リンパ球

キーワード：ILC2 分化 ストローマ細胞

1. 研究開始当初の背景

獲得免疫系の細胞である T 細胞をサイトカイン産生様式により分類すると Th1、Th2、Th17 型に分けることができる。これに対し、2 型自然リンパ球 (ILC2) の発見によって自然免疫系にもこれらに対応する形で NK 細胞、ILC2、LTi 細胞が存在することが明らかになり、感染防御やアレルギー性炎症におけるリンパ球のサイトカイン産生が、急速で激しい自然免疫と、緻密で特異的な獲得免疫の二重機構によって行われると考えられるようになった。

脂肪組織で見出した ILC2 は幹細胞の表現型である Lin⁻c-Kit⁺Sca-1⁺を示す細胞だが、いかなる細胞への分化能も持たず、IL-2、IL-25、IL-33 に対する受容体を発現することで、喘息をはじめとするアレルギー性炎症や寄生虫感染時に 2 型サイトカインを産生する。ILC2 は IL-7 ノックアウトマウスで欠損することから、その分化に IL-7 が必須と考えられ、他の自然免疫系リンパ球同様、Id2 ノックアウトマウスには存在しない。CLP からの B 細胞、T 細胞分化を支持するストローマ細胞として用いられる TSt4 細胞と、Tst4 細胞に Notch リガンドを発現させた TSt4-DLL1 細胞との共培養実験の結果、ILC2 は TSt4-DLL1 細胞との共培養でのみ分化が認められたことから T 細胞同様、ILC2 の分化には Notch シグナルが必須であることが明らかになった。B 細胞、NK 細胞、LTi 細胞はその分化に Notch シグナルを必要としないことから ILC2 とは異なる分化経路を持つと考えられるが、T 細胞と ILC2 の分化経路の相違点は全く分かっていなかった。

B 細胞や NK 細胞は骨髄で成熟するが、T 細胞は胸腺で成熟する。ILC2 は胸腺を欠損するヌードマウスにも正常に存在が認められることから T 細胞との運命決定には成熟の場が重要であることが予想された。それまでの研究では、自然リンパ球が CLP から Id2 依存的に分化することと、それぞれの細胞に特異的な転写因子については明らかになっているものの、それぞれの細胞の運命決定機構や運命決定後の特異的な前駆細胞についてはほとんどわかっていなかった。

2. 研究の目的

ILC2 はリンパ球共通前駆細胞 (Common lymphoid progenitor; CLP) から分化することが分かっていた。そこで本研究では、ILC2 の分化が胎児肝臓、骨髄、脂肪組織のどこで起こるかを明らかにするとともに、分化の場で提供される分化に必要な外的因子の探索を行ことにした。さらに、ILC2 前駆細胞の同定および ILC2 分化を支持するストローマ細胞の同定を試みた。

3. 研究の方法

TSt4-DLL1 細胞と CLP の共培養実験において IL-7 濃度と Notch シグナルの発現をかえることにより、T 細胞、ILC2 を含むすべてのリンパ球分化に最適な IL-7 濃度、Notch シグナルの長さ、強さを調べた。胸腺上皮細胞における DLL を欠損させたマウスで T 細胞と ILC2 の分化にどのような影響が出るかを調べた。

ILC2 の分化の時期と場を探るために、胎生期から生体まで様々な組織における ILC2 の存在を確認した。この実験では、ILC2 だけでなく ILC2 前駆細胞がいつからどこに存在するかについても着目した。ILC2 の分化の場でどのような細胞が ILC2 分化を支持するかを調べるために、ストローマ細胞に着目した実験を行い、ILC2 分化を支持したストローマ細胞の表現型および遺伝子発現を精査した。

4. 研究成果

ILC2 はリンパ球共通前駆細胞 (Common lymphoid progenitor; CLP) から分化することが分かっていたが、その分化が胎児肝臓、骨髄、脂肪組織のどこで起こるか、また、場で提供される分化に必要な外的因子については明らかになっていなかった。

ILC2 の分化に IL-7 および Notch シグナルが必要なことが明らかになっていたが、これらの因子は T 細胞分化にも必須である事から、量的な違いに着目して解析を行った。その結果、T 細胞中程度の IL-7 と強い Notch シグナルを必要とするのに対し、ILC2 は高濃度の IL-7 と弱い Notch シグナルを必要とすることが明らかになった。また、他のリンパ球サブセットもこれらの因子によって CLP からの分化が制御される事が明らかになった。さらに胸腺上皮細胞における DLL を欠損させたマウスでは、野生型マウスの胸腺では ILC2 が検出できないのに対し、適切な Notch シグナルによって ILC2 が出現することが明らかになった。

ILC2 がどこで分化するかについては、近年骨髄において ILC2 を含む全 ILC 前駆細胞が同定されたことによって骨髄だと考えるようになってきた。しかしながら、本研究から、ILC2 はすでに胎生期に脂肪組織や肺、腸管などの末梢組織に存在し、ILC2 前駆細胞も末梢に胎生期から存在する事が明らかになった。さらに、ILC2 の分化を支持するストローマ細胞の同定を試みたところ、胎児および生体の脂肪組織に ILC2 分化を誘導することができるストローマ細胞が存在する事が明らかになった。

以上の結果より、ILC2 は肝臓に存在する CLP が全自然リンパ球前駆細胞へと分化し、その後末梢組織に移動することでストローマ細胞と出会い、成熟 ILC2 へと分化することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 8件)

K. Moro, H. Kabata, M. Tanabe, S. Koga, N. Takeno, M. Mochizuki, K. Fukunaga, K. Asano, T. Betsuyaku and S. Koyasu. Interferon and IL-27 antagonize the function of group 2 innate lymphoid cells and type 2 innate immune responses. *Nat Immunol*, 2016. **17**(1): p. 76-86. 査読有

H. Morita, K. Moro and S. Koyasu. Innate lymphoid cells in allergic and nonallergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2016. **138**(5): p. 1253-1264. 査読有

A. Vasanthakumar, K. Moro, A. Xin, Y. Liao, R. Gloury, S. Kawamoto, S. Fagarasan, L. A. Mielke, S. Afshar-Sterle, S. L. Masters, S. Nakae, H. Saito, J. M. Wentworth, P. Li, W. Liao, W. J. Leonard, G. K. Smyth, W. Shi, S. L. Nutt, S. Koyasu and A. Kallies. The transcriptional regulators IRF4, BATF and IL-33 orchestrate development and maintenance of adipose tissue-resident regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2015. **16**(3): p. 276-85. 査読有

K. Moro and S. Koyasu. Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota. *Semin Immunopathol*, 2015. **37**(1): p. 27-37. 査読有

K. Moro, K. N. Ealey, H. Kabata and S. Koyasu. Isolation and analysis of group 2 innate lymphoid cells in mice. *Nat Protoc*, 2015. **10**(5): p. 792-806. 査読有

H. Kabata, K. Moro, S. Koyasu and K. Asano. Group 2 innate lymphoid cells and asthma. *Allergol Int*, 2015. **64**(3): p. 227-34. 査読有

Y. Motomura, H. Morita, K. Moro, S. Nakae, D. Artis, T. A. Endo, Y. Kuroki, O. Ohara, S. Koyasu and M. Kubo. Basophil-derived interleukin-4 controls the function of natural helper cells, a member of ILC2s, in lung inflammation. *Immunity*, 2014. **40**(5): p. 758-71. 査読有

A. R. Forrest, H. Kawaji, M. Rehli, J. K. Baillie, M. J. De Hoon, V. Haberle, T. Lassmann, I. V. Kulakovskiy.....K. Moro.....B. Lenhard, V. B. Bajic, M. S. Taylor, V. J. Makeev, A. Sandelin, D. A. Hume, P. Carninci and Y. Hayashizaki. A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature*, 2014. **507**(7493): p. 462-70. 査読有

〔学会発表〕(計 46件)

Kazuyo Moro

Group 2 innate lymphoid cell and allergic inflammation

Advances in Targeted Therapies Meeting

Mandelieu, France

2017年3月29日

Kazuyo Moro

Suppression mechanism of

Group 2 innate lymphoid cells

FASEB IgE and Allergy, 50 Years & Onward

West Palm Beach, Florida

2016年6月26日

茂呂和世

ILC2による好酸球性炎症誘導機構

第65回日本アレルギー学会学術大会

2016年6月18日

東京国際フォーラム(東京都千代田区)

Kazuyo Moro

Interferon and IL-27 antagonize ILC2 function and type 2 innate immune responses

44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology

札幌コンベンションセンター、(北海道札幌市)

2015年11月18日

Kazuyo Moro

Innate lymphoid cells and inflammation

43rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology

国立京都国際会館、(京都府京都市)

2014年12月11日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ

<http://www.ims.riken.jp/labo/56/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

茂呂和世 (Kazuyo Moro)
国立研究開発法人理化学研究所・統合生命
医科学研究センター・チームリーダー
研究者番号：90468489

(2)研究分担者
なし

研究者番号：

(3)連携研究者
伊川 友活 (Tomokatsu Ikawa)
国立研究開発法人理化学研究所・統合生命
医科学研究センター・上級研究員
研究者番号：60450392

(4)研究協力者
なし