

令和元年6月20日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08835

研究課題名(和文)2型自然リンパ球の分化・機能獲得を制御する免疫微小環境の解明

研究課題名(英文)Analysis of immune microenvironment essential for ILC2 development

研究代表者

原 崇裕 (Hara, Takahiro)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・助教

研究者番号：90512301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：2型自然リンパ球(Group 2 innate lymphoid cell: ILC2)は抗原受容体を持たない新規に同定されたリンパ球であり、喘息アレルギー疾患や寄生虫排除に重要な働きをしている。ILC2の分化にはサイトカインIL-7が必須であることが知られているが、ILC2の分化を支持するIL-7産生性の微小環境は未だ同定されていない。

本研究では、骨髄ストローマ細胞特異的なIL-7欠損マウスと、IL-7-GFPノックインマウスの骨髄を解析し、ILC2の分化を支持する骨髄微小環境の性状を調べた。また、末梢組織である腸間膜や肝臓は、ILC2の分化に適していないことを示唆する結果も得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、IL-7遺伝子座に蛍光タンパクGFPをノックインしたマウス及び、ストローマ細胞特異的IL-7遺伝子欠損マウスを用いて、ILC2の分化の場となるIL-7産生性の局所的環境(ニッチ)を明らかにすることを目的とした。本研究結果により、気管支喘息や寄生虫感染症などの疾患に対して、ニッチ細胞特異的にIL-7産生を薬物で調節し、自然リンパ球の発生をコントロールする治療法の開発が可能になると予想される。

研究成果の概要(英文)：Group 2 innate lymphoid cell (ILC2) play important roles in asthma and parasitic worm infection. ILC2 development heavily depends on IL-7, however, the in vivo source of IL-7 required for ILC2 development is unidentified. In other words, it is unknown where and how ILC2s are generated in vivo.

In this study, we analyzed immune microenvironment essential for ILC2 development. By using IL-7 conditional knockout mice and IL-7 reporter mice, we narrowed down the candidate cells that support ILC2 development.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫微小環境

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

1. 研究開始当初の背景

2型自然リンパ球 (Group 2 innate lymphoid cell : ILC2) は抗原受容体を持たない新規に同定されたリンパ球であり、喘息アレルギー疾患や寄生虫排除に重要な働きをしている。ILC2の分化にはサイトカイン IL-7 が必須であることが知られているが、ILC2 の分化を支持する IL-7 産生性の微小環境は未だ同定されていない。

IL-7 タンパクの発現レベルは非常に低いため、抗体による検出は困難である。従って、どの細胞から IL-7 が産生され、各組織においてどのような局所機能を果たしているのかが知られていなかった。我々はこれまでに、IL-7 産生細胞を同定するため、IL-7 遺伝子の第一エキソンを GFP に置き換えた IL-7-GFP ノックインマウスを作製した。その結果、胸腺、リンパ節、腸管などの様々なリンパ組織において、IL-7 を産生するストローマ細胞を検出することに成功した。また、標的ストローマ細胞特異的に IL-7 を欠損させるコンディショナル・ノックアウト・マウス (IL-7cKO マウス) を用い、胸腺や肝臓において、T 細胞に対する IL-7 の局所機能を明らかにしてきた。

一方で、造血の調節組織である骨髄には、CAR 細胞、血管内皮細胞、骨芽細胞だけでなく様々な種類のストローマ細胞が存在している。なかでも CAR 細胞や血管内皮細胞が、造血幹細胞ニッチとして働くことが知られている。造血幹細胞からリンパ系共通前駆細胞を経て、IL-7 依存的に ILC2 が分化すると考えられているが、その分化を支持するストローマ細胞の種類と性状は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究は、IL-7 遺伝子座に蛍光タンパク GFP をノックインしたマウス及び、ストローマ細胞特異的 IL-7 遺伝子欠損マウスを用いて、ILC2 の分化の場となる IL-7 産生性の局所的環境 (ニッチ) を明らかにすることを目的とする。本研究成果により、気管支喘息や寄生虫感染症などの疾患に対して、ニッチ細胞特異的に IL-7 産生を薬物で調節し、自然リンパ球の発生をコントロールする治療法の開発が可能になると予想される。

3. 研究の方法

A. 骨髄 IL-7 産生細胞の詳細な同定、及び細胞特異的 IL-7 欠損マウスの表現型解析

IL-7-GFP ノックインマウスを用いた FACS 解析と免疫組織染色により、骨髄内の IL-7 産生性ストローマ細胞の種類を詳細に同定する。また、種々のストローマ細胞から IL-7 を欠損させたマウスの骨髄細胞を FACS 解析し、ILC2 の分化が抑制されているかどうかを明らかにする。

B. ILC2 の分化を支持するニッチの同定

IL-7-GFP ノックインマウスの骨髄切片を蛍光顕微鏡で観察し、ILC2 と IL-7 産生性ストローマ細胞の接触を定量的に解析することにより、ILC2 分化のニッチを同定する。

4. 研究成果

IL-7-GFP ノックインマウスの骨髄ストローマ細胞分画を FACS 解析し、骨髄 IL-7 産生性ストローマ細胞を詳細に同定した (結果の一部は論文 で発表)。また、種々のストローマ細胞特異的な IL-7 欠損マウスを用意し、骨髄 ILC2 の細胞数を調べた。細胞数の減少が見られた系統において、リン酸化 STAT5 の発現量、BrdU の取り込みや Bcl-2 の発現量を解析し、細胞数が減少した理由を明らかにした。更に、IL-7-GFP ノックインマウスの骨髄切片を作成し、免疫組織染色法を用いて骨髄内の ILC2 の存在領域を調べた。その結果、骨髄 ILC2 が特徴的な分布様式を示すことが明らかとなった。一方で、ILC2 ニッチを構成するのは、IL-7 産生性のストローマ細胞だけではなく、IL-7 非産生性のストローマ細胞も関与していることを示唆する結果も得られた。以上のことから、ILC2 の分化を支持する骨髄微小環境が明らかになりつつある。

また、末梢組織のストローマ細胞が ILC2 の分化に寄与するかどうかを調べる実験も行った。まず、IL-7-GFP ノックインマウスを観察した結果、腸間膜では IL-7-GFP のシグナルが全く検出されなかった。従って、末梢組織である腸間膜は、ILC2 分化の場としては適していないことが示唆された。また、肝臓は胎児期の造血臓器であり、肝臓における主要な IL-7 産生源は肝細胞であるが、肝細胞特異的に IL-7 を欠損させたマウス (Albumin-Cre IL-7cKO マウス)

では、肝臓内 ILC2 の絶対数に変化が無かった。従って、肝細胞に由来する IL-7 は、ILC2 の分化に必須ではないことが示唆された。

今後は、ILC2 ニッチを構成する骨髄ストローマ細胞が、ILC2 のエフェクターサイトカイン産生機能の獲得に影響するか調べる必要がある。そのため、ILC2 ニッチを構成するストローマ細胞を欠損させたマウスに対し、喘息モデルや寄生虫を播種する方法を適用し、症状に変化があるかどうかを明らかにしたい。また、ILC2 だけでなく、自然免疫を担当する様々な細胞に対して、分化を支持するストローマ細胞を明らかにし、骨髄ニッチの研究を進展させていく必要がある。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

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, Schütz G, and Ikuta K.

“Glucocorticoids drive diurnal oscillations in T cell distribution and responses by inducing interleukin-7 receptor and CXCR4”

Immunity (2018) 48(2):286-298 査読有り

doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.004.

* Co-first author, # Corresponding author

Cordeiro Gomes A*, Hara T*#, Lim VY*, Herndler-Brandstetter D, Nevius E, Sugiyama T, Tani-Ichi S, Schlenner S, Richie E, Rodewald HR, Flavell RA, Nagasawa T, Ikuta K, Pereira JP #

“Hematopoietic Stem Cell Niches Produce Lineage-Instructive Signals to Control Multipotent Progenitor Differentiation”

Immunity (2016) 45(6):1219-1231 査読有り

doi: 10.1016/j.immuni.2016.11.004.

Shinoda K, Hirahara K, Iinuma T, Ichikawa T, Suzuki AS, Sugaya K, Tumes DJ, Yamamoto H, Hara T, Tani-ichi S, Ikuta K, Okamoto Y, Nakayama T.

“Thy1+IL-7+ lymphatic endothelial cells in iBALT provide a survival niche for memory T-helper cells in allergic airway inflammation”

Proc Natl Acad Sci U S A. (2016) 113(20):E2842-2851 査読有り

doi: 10.1073/pnas.1512600113.

〔学会発表〕(計 11 件)

2018 年 第 47 回 日本免疫学会学術集会 (福岡国際会議場)

Takuma Asahi, Akihiro Shimba, Guangwei Cui, Shinya Abe, Yuanbo Zhu, Aki Ejima, Daichi Takami, Shizue Tani-ichi, Takahiro Hara, Koichi Ikuta

“Local IL-15 dependency of liver-resident ILC1”

2018 年 第 47 回 日本免疫学会学術集会 (福岡国際会議場)

Shinya Abe, Takahiro Hara, Guangwei Cui, Takuma Asahi, Koichi Ikuta

“Hematopoietic cell-derived IL-15 supports the development and maintenance of NK, NKT and memory CD8 T cells in bone marrow”

2018 年 第 47 回 日本免疫学会学術集会 (福岡国際会議場)

Hisa Mukohira, Takahiro Hara, Shizue Tani-ichi, Koichi Ikuta

“CXCL12-expressing bone marrow stromal cells express adiponectin and are targeted by Adipoq-Cre transgene”

2018 年 第 47 回 日本免疫学会学術集会 (福岡国際会議場)

Yuanbo Zhu, Guangwei Cui, Akihiro Shimba, Shinya Abe, Takahiro Hara, Shizue Tani-ichi, Koichi Ikuta

“Intestinal epithelial cell-derived IL-15 supports the homeostasis of intraepithelial lymphocytes”

2017年 7th KTCC International Workshop on T Lymphocytes (京都大学 芝蘭会館)

Takahiro Hara

“Identification of bone marrow IL-7 niche critical for B lymphopoiesis”

2017年 11th International Symposium of The Institute Network (徳島大学 藤井節郎記念医科学センター)

Takahiro Hara

“Identification and characterization of IL-7 niche in vivo”

2016年 第45回 日本免疫学会学術集会 (沖縄コンベンションセンター)

阿部真也、原 崇裕、崔 広為、生田宏一

“Identification of IL-15 niche for NK cells in bone marrow”

2016年 第45回 日本免疫学会学術集会 (沖縄コンベンションセンター)

崔 広為、榛葉旭恒、阿部真也、朱媛博、向平妃沙、谷一靖江、原 崇裕、生田宏一

“Local function of the IL-15 niche in thymus”

2016年 International Congress of Immunology 2016 (メルボルン)

崔広為、榛葉旭恒、谷一靖江、原 崇裕、生田宏一

“Competitive signaling between STAT5 and PI3K of the IL-7R modulates T cell development and homeostasis in vivo”

2016年 第26回 Kyoto T Cell Conference (延暦寺会館)

崔広為、榛葉旭恒、朱媛博、小川真、谷一靖江、原 崇裕、生田宏一

“Competitive balance between STAT5 and PI3K signaling pathways of IL-7R modulates T cell development and homeostasis in vivo”

2016年 第26回 Kyoto T Cell Conference (延暦寺会館)

原 崇裕、生田宏一

骨髄におけるリンパ球分化を制御する IL-7 産生ストローマ細胞の同定

〔図書〕(計 1件)

原 崇裕

多能造血前駆細胞からリンパ球までの分化を方向付ける骨髄 IL-7 ニッチの同定
医学のあゆみ 261 巻 11号 1060-1064 頁 2017年

〔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:

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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

京都大学ウイルス・再生医科学研究所
<http://www.infront.kyoto-u.ac.jp/>
京都大学ウイルス・再生医科学研究所 免疫制御分野
<http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab/Ikuta-Lab/index.html>

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：
ローマ字氏名： João Pedro Pereira

研究協力者氏名： 長澤 丘司
ローマ字氏名： NAGASAWA, Takashi

研究協力者氏名： 杉山 立樹
ローマ字氏名： SUGIYAMA, Tatsuki

研究協力者氏名： 谷一 靖江
ローマ字氏名： TANI-ICHI Shizue

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。