

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-2

課題名：自然リンパ球の解析に基づいた成育期慢性炎症性疾患の新規治療標的創出

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター研究所
(所属・職名 氏名) 免疫アレルギー・感染研究部アレルギー研究室 森田英明

(研究成果の要約) 本研究では、成育期における自然リンパ球の解析基盤を確立し、これら解析を通じて成育期慢性炎症性疾患の新規治療標的を創出することを目的とする。本年度は、成育期の健常小児における自然リンパ球を含む免疫細胞の動態を、臍帯血及び6ヶ月児、13歳の健常児の末梢血を用いて検討した。その結果、臍帯血及び6ヶ月児では13歳児と比較して自然リンパ球の数が多いいことを見出した。更に、マウスモデルにおいても、成人期と比較して乳児期では、皮膚組織における2型自然リンパ球、3型リンパ球の数が有意に多く、アトピー皮膚炎がより重篤化しやすいことを見出した。これらの知見から、成人期とは異なる新生児期-乳児期の免疫機構が、小児期のアレルギー疾患に関与している可能性を見出した。

1. 研究目的

アレルギー性疾患、炎症性腸疾患、自己免疫疾患、内分泌代謝性疾患を含む慢性炎症性疾患が、先進国を中心に増加しており、社会的な問題となっている。従来の治療法は、症状の軽減に一定の効果を示すものの、継続的な投与が必須であり医療経済的に問題となっている。故に、詳細な病態の理解に基づく、病態の根本原因を標的にした新規治療法の開発がもてめられている。近年新たに同定された免疫細胞である自然リンパ球は慢性炎症性疾患の病態に深く関与していることが示唆されているが、成育期の慢性炎症性疾患における自然リンパ球の役割は明らかになっていない。本研究では、自然リンパ球を標的にした新規治療法開発への基盤整備として、成育期における末梢血中の自然リンパ球を含む免疫細胞の動態(正常値)を明らかにした上で、慢性炎症性疾患児の末梢血及び組織中の自然リンパ球を解析し、病態形成に自然リンパ球が関与しうる成育期の慢性炎症性疾患をスクリーニングする。また、希少細胞である自然リンパ球を含む免疫細胞を疾患患者から分離し、次世代シーケンサーを用いて特徴を解析することにより、新たな治療標的の創出につなげることを目的とする

2. 研究組織

研究者 所属施設

森田 英明 国立成育医療研究センター

3. 研究成果

本年度の研究は、下記の4点を具体的な目標としている。

1) 成育期の健常小児における自然リンパ球の動態

健常小児から血液を採取し、自然リンパ球を含む免疫細胞プロファイルを用いて flow cytometer を用いて検討した。これまでに、臍帯血、13歳の健常児の解析が終了し、本年度はコホート研究に参加している6ヶ月児の解析を行った。その結果、13歳児と比較して、臍帯血及び6ヶ月児の末梢血では、自然リンパ球の総数、各サブセットの細胞数が有意に多いことを見出した。

2) 病態形成に自然リンパ球が関与する成育期慢性炎症性疾患のスクリーニング

近年、抗原特異的免疫療法は、一部のアレルギー疾患において有効性が示されつつあるが、作用機序に関しては不明な部分も多い。そこで、抗原特異的免疫療法における自然リンパ球を含む免疫細胞の役割を明らかにすることで、より効果的で安全な治療法の開発につなげることを目的とした。ダニアレルギー患者で、抗原特異的免疫療法を受ける患者のうち、研究参加の同意を得られた25名を対象とし、免疫療法開始前、開始10週後、開始30週後に血液を採取し、末梢血単核球中の自然リンパ球を解析した。その

結果、治療反応群では、治療経過中から終了後にかけて、IL-10 を産生する自然リンパ球 (IL-10+ILC) 数が増加し、炎症性サイトカインを産生する 2 型自然リンパ球 (ILC2) 数が減少することを明らかにした。一方で、治療不応群では、これらの変化を認めなかった。また、IL-10+ILC の割合が症状スコアと負の相関を示すことも明らかにした。これらの事実は、ダニアレルギー患者における抗原特異的免疫療法では、IL-10+ILC の誘導が治療の可否を決める可能性を示唆している。

3) 病態形成に自然リンパ球が関与する成育期慢性炎症性疾患のスクリーニング

これまでに慢性副鼻腔炎患者の鼻組織に IL-10+ILC が存在すること、抗原特異的免疫療法が奏功した患者の末梢血で IL-10+ILC が誘導され、症状の改善と相関することを明らかにしてきた。これらの知見は、IL-10+ILC の誘導メカニズムの解明が、アレルギー疾患の新たな治療法の開発につながる可能性を示唆している。そこで本年度は IL-10+ILC の誘導因子の探索を行った。これまでに、高度 2 型炎症が生じる状態になった場合、もしくは繰り返し抗原に暴露されることにより IL-10+ILC が誘導されることを

見出した。

4) 自然リンパ球を標的にした慢性炎症性疾患治療法開発に向けた基礎検討

異なる週齢のマウスを用いて、皮膚組織における免疫細胞プロファイルを flow cytometer を用いて解析した。その結果、乳児期の皮膚組織では成人期と比較して、主に真皮で ILC2 数が有意に多いことを見出した。さらにビタミン D アナログを塗布することで皮膚炎を誘導するアトピー皮膚炎モデルでは、成人期マウスと比較して乳児期マウスで有意に増悪することを見出した。これらの事実から、乳児期における ILC2 数がアレルギー疾患の発症と関連している可能性を示唆された。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究の内容は倫理委員会に申請後、臨床研究に関する倫理指針を遵守して実施する。特に、臨床検体の採取にあたっては、本人及び両親に対し十分な同意説明を行う。

本研究については「自然リンパ球の解析に基づいた成育期慢性炎症性疾患の新規治療標的創出」として平成 29 年 9 月 1 日付 (受付番号 1551) で倫理委員会での承認を受けている。