

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

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

（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。初年度である本年度は、自然リンパ球を含む合計18種類の免疫細胞の解析をするためのフローサイトメトリー解析パネルのセットアップを行った。また、健常児および慢性炎症性疾患患者の解析を行うべく、本研究課題の倫理委員会の承認申請を得て（承認番号1551）、血液検体の収集体制を整備した。また、倫理委員会での承認後、健常児の検体収集を開始し、既に40検体の解析を終了した。また、3年度以降にRNA sequencing (RNA-seq) を用いた自然リンパ球の特徴解析に向けて、微量の細胞からでもトランスクリプトーム解析できる高感度 RNA-seq 法の確立に向けた検討を開始した。自然リンパ球の *in vivo* での解析を可能にすべく、自然リンパ球の役割を解析できる動物モデルの確立を開始した。これまでにダニ等のプロテアーゼ誘導性気道炎症モデル、真菌誘導性気道炎症モデルを確立した。

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とめられている。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。そこで本研究では、健常児及び慢性炎症性疾患児の末梢血及び組織サンプルを使用した臨床研究と、動物実験を含む基礎研究を組み合わせる行うことにより、自然リンパ球の慢性炎

症性疾患への関与を検討し、自然リンパ球を標的にした新規治療法開発への基盤形成を行う。下記の4点について検討する。

① 成育期の健常小児における自然リンパ球の動態の検討

自然リンパ球は新規の免疫細胞で小児における動態は不明である。マウスでは成育期、成人期において自然リンパ球の動態が変化し、年齢依存的な疾患発症の一因となっている可能性が示唆されている。そこで本研究ではまず成育期の健常児における自然リンパ球の動態を明らかにすることを目的とする。

② 病態形成に自然リンパ球が関与する成育期の慢性炎症性疾患のスクリーニング

成育期の慢性炎症性疾患における自然リンパ球の関与は不明である。そ

ここで、自然リンパ球が病態形成に関与する可能性のある慢性炎症性疾患を同定することを目的とする。

③ 成育期の慢性炎症性疾患の病態に関する自然リンパ球の特徴解析

自然リンパ球を標的にした治療法の開発には、病態に関する自然リンパ球の特徴を明らかにする必要がある。そこで②で自然リンパ球の関与が示唆された慢性炎症性疾患を対象として、病態形成に関する自然リンパ球の特徴を明らかにすることを目的とする。

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的な検討

将来的な自然リンパ球を標的にした新規治療法の開発には、自然リンパ球を治療標的とする意義を *in vivo* で検証することが必要となる。そこで、動物モデルを使用して慢性炎症性疾患における *in vivo* での自然リンパ球の役割を明らかにすることを目的とする。

2. 研究組織

主任研究者 所属施設

森田 英明 国立成育医療研究センター
一研究所 免疫アレルギー・感染研究部

3. 研究成果

① 成育期の健常小児における自然リンパ球の動態の検討

初年度である本年度は、自然リンパ球を含む免疫細胞を解析するためのフローサイトメトリー解析パネルのセットアップを行った。3種類の自然リンパ球を含む18個の免疫細胞の数および活性を評価できるパネルを作成した。また、倫理委員会の承認申請を得て（承認番号 1551）、成育コホート研究に参加している健常児を対象に血液検体の収集体制を整備し、採取を開始した。すでに40検体の解析を行っており、さらに症例数を増やして検討を進める。

② 病態形成に自然リンパ球が関与する

成育期の慢性炎症性疾患のスクリーニング

本年度は、倫理委員会の承認申請を得た（承認番号 1551）。

③ 成育期の慢性炎症性疾患の病態に関する自然リンパ球の特徴解析

3年度以降に RNA sequencing (RNA-seq) を用いた自然リンパ球の特徴解析を予定している。生体内から採取できる自然リンパ球の数は、数個から数百個であることが予想されるため、微量の細胞からでもトランスクリプトーム解析ができる高感度 RNA-seq の実験系を確立する必要がある。本年度から、1個～300個の細胞を用いて、高感度 RNA-seq 法確立に向けた検討を開始した。

⑤ 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

自然リンパ球の役割を解析できる動物モデルの確立を行なった。これまでに2型自然リンパ球の解析モデルとなる、ダニ等のプロテアーゼ誘導性気道炎症モデル（気管支喘息モデル）、真菌誘導性気道炎症モデル（気管支喘息モデル）を確立した。

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。