

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-2B

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 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、13歳児の末梢血および臍帯血を用いて検討した。その結果、臍帯血では13歳児と比較して異なる免疫プロファイルを呈することを見出した。また、慢性炎症性疾患における自然リンパ球の動態、役割に関する検討を開始した。これまでに慢性炎症性疾患の一つである慢性副鼻腔炎患者の鼻組織において、代表的な制御性サイトカインとして知られるIL-10を産生する新規自然リンパ球サブセットが存在することを見出した。

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ためられている。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研究所

3. 研究成果

本研究では、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

これまでに、成育コホート研究に参加している13歳の健常児70名、及び当院で出生した健常児20名の臍帯血を採取し、自然リンパ球を含む免疫細胞のプロファイルをflow cytometerを用いて検討した。その結果、臍帯血では13歳児と比較して、自然リンパ球の総数、及び各サブセットの数が有意に多いことが判明した。また、好中球や好酸球、好塩基球数も臍帯血で有意に多いことが判明した。これらの事実は、自然リンパ球を中心とした自然免疫が、獲得免疫と比較して、特に新生児期から乳児期にかけて優位になる可能性を示唆している。

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

本年度より、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を対象に、自然リンパ球を含む免疫細胞

胞の解析を開始した。また、好酸球性消化管疾患患者においても検討を開始した。更に、慢性副鼻腔炎患者の鼻組織において、炎症制御性のサイトカインである IL-10 を産生する新規自然リンパ球サブセットが存在することを見出した。

- 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
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できる高感度 RNA-seq 法を確立する必要がある。本年度は、ヒト末梢血から Th2 細胞を分離し、高感度 RNA-seq 法確立に向けた検討を行なった。その結果、1 個の細胞からでも signature gene を検出することができた。さらに特に 50 個以上の細胞を用いた場合には、300 個の脂肪を用いた解析と相

関性が高く、より信頼性の高いデータが得られることが判明した。

- 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
アルテルナリアを吸入させることにより、ILC2 依存的に好酸球性気道炎症が誘導できることを見出した。またその炎症惹起に血小板が関与している可能性を見出した。

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。