

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業(免疫アレルギー疾患実用化研究分野)
(英語) Practical Research Project for Allergic Diseases and Immunology
(Research on Allergic Diseases and Immunology)

研究開発課題名 : (日本語) 2型自然リンパ球による気管支喘息の発症機構解明と診断・治療法の開発
(英語) Elucidation of the pathogenesis, and development of diagnostic and therapeutic methods in ILC2-dependent asthma.

研究開発担当者 (日本語) 理化学研究所 統合生命医科学研究センター
自然免疫システム研究チーム、チームリーダー、茂呂和世

所属 役職 氏名 : (英語) RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Laboratory for Innate Immune Systems, Team leader, Kazuyo Moro

実施期間 : 平成 28年 4月 1日~平成 32年 3月 31日

分担研究 (日本語) 2型自然リンパ球による気管支喘息の発症機構解明と診断・治療法の開発
開発課題名 : (英語) Elucidation of the pathogenesis, and development of diagnostic and therapeutic methods in ILC2-dependent asthma.

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部 呼吸器内科、専任講師、福永興壱
所属 役職 氏名 : (英語) Pulmonary Division, Department of Medicine, Keio University School of Medicine, Assistant Professor, Koichi Fukunaga

研究開発分担者 (日本語) 東京大学大学院理学系研究科 生物科学専攻
光計測生命学講座 1分子遺伝学研究室、特任助教、白崎善隆
所属 役職 氏名 : (英語) Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The university of Tokyo、Project Assistant Professor、Yoshitaka Shirasaki

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

気管支喘息には多様な亜群が存在しており、その分類は年齢による分類（小児喘息、成人喘息）、抗原反応性による分類（アトピー型喘息、非アトピー型喘息）、表現型による分類（肥満合併型喘息、好酸球優位型喘息）など様々であるが各分類の明確なガイドラインは決められていないのが現状であり、各亜群を分類できる診断法の開発が待たれている。

2型自然リンパ球 (Innate lymphoid cells: ILC2) は 2010 年に我々が報告した新しいリンパ球で、アレルギー性疾患において発現が亢進する IL-25 や IL-33 といった上皮由来のサイトカインに反応し、2型サイトカインである IL-5 や IL-13 を多量に産生する。2型サイトカインがアレルギー性疾患の増悪に関与することは定説だったものの、その主な産生源は Th2 細胞であると考えられこれまでのアレルギー性疾患の研究・開発が行われてきた。そのため Th2 細胞だけでは説明できない症状が疾患の理解を困難にさせてきたが、ILC2 の発見によって抗原に依存しないアレルギー発症機構の存在が明らかになり、今新たな視点で気管支喘息の発症、診断、治療を考え直す必要が出てきている。我々はこれまでに喘息において IL-33 が抗原非依存的に ILC2 を活性化することで好酸球浸潤やムチン産生の促進、気道過敏性の悪化を引き起こすことや、IL-33 と TSLP が同時に産生されることでステロイド抵抗性が発現し重症喘息となること、さらに IFN や IL-27 が気管支喘息において ILC2 の抑制に効果を示すことを報告してきた。これまで 2型サイトカインの主要な産生源だと考えられてきた Th2 細胞が IL-5 と IL-13 だけでなく IL-4 を産生するのに対し、ILC2 は IL-4 産生を行わない細胞だと考えられてきた。しかしながら、本研究から ILC2 がある条件において抗原非依存的に IL-4 を産生することが明らかになり、その産生メカニズムの全貌解明および役割について現在解析を進めている。

本研究では既存薬ライブラリから ILC2 抑制に有効な治療薬をスクリーニングすることで、新しい気管支喘息の治療法を開発も目指している。本年度はマウス ILC2 を用いることで ILC2 の増殖、サイトカイン産生を抑制可能な候補薬を絞り込んだ。さらに気管支喘息の亜群を明確に分類できる診断法を開発する目的で、1細胞解析技術を用いた ILC2 の活性化状態評価法を開発している。この方法は血液内の少ない ILC2 を評価するために有用な技術で、増殖だけでなく活性化状態を見ることができる。気管支喘息のある患者検体ではない患者に比べ、数的な差は見られないものの活性化に大きな差が見られることが本年度の成果から明らかになりつつある。この技術を確立することで、気管支喘息患者の亜群を Th2 依存的な喘息と ILC2 依存的な喘息に分類し、ターゲットごとに異なる治療薬を適用することでより効果的な治療が可能になると期待される。また将来的には気管支喘息だけでなく ILC2 が関わる様々なアレルギー性疾患に応用される技術開発になると期待している。

Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways of the lungs which is characterized by variable and recurring symptoms, reversible airflow obstruction, and bronchospasm. Asthma is generally classified by age, antigen sensitivity and phenotypes. However, there is currently no method for classifying different subgroups of asthma beyond this system. Therefore, development of a method to identify subgroups that respond well to different

types of treatments is a current critical goal of asthma research.

Group 2 innate lymphoid cells (ILC2), a new type of innate lymphocyte that we originally reported as natural helper cells in 2010, are known to regulate type2 immune responses. It is now well-known that ILC2 are involved in asthma, due to their strong production of type 2 cytokines. ILC2 rapidly produce large amounts of IL-5 and IL-13, which are hallmark cytokines of Th2 cells, prior to the acquired immune response. Although Th2 cells produce IL-4 as well as IL-5 and IL-13 after TCR stimulation by antigen, it was thought that ILC2 lack the ability to produce IL-4 even after stimulation with IL-33 or IL-25 which are known to induce IL-5 and IL-13 production in these cells. However, in this project, we identified the physiological condition that induces IL-4 production in ILC2 in the absence of antigen, which is distinct from that in Th2 cells. We would like to verify the role and entire mechanism for IL-4 production in ILC2 and utilize the findings to develop a new treatment for asthma.

In this project, we are screening drugs that can suppress ILC2 for asthma treatment. Furthermore, to establish a method for classifying different subgroups of asthma, we are focusing on the activation status of ILC2 rather than the number of ILC2 in asthma patients. We established a real-time single-cell cytokine imaging system to detect type 2 cytokine production in ILC2 in asthma patients. This system is a very useful method for detecting rare ILC2 in the peripheral blood. We found that while the number of ILC2 is not related to the presence or absence of asthma, cytokine production activity is significantly higher in the asthma patients compared to healthy individuals. Using this method, we plan to develop a diagnostic method that can classify ILC2-dependent asthma and Th2-dependent asthma in the near future.

研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Moro K, Kabata H, Tanabe M, Koga S, Takeno N, Mochizuki M, Fukunaga K, Asano K, Betsuyaku T and Koyasu S. Interferon and IL-27 antagonize the function of group 2 innate lymphoid cells and type 2 innate immune responses. *Nature immunology*. 2016, 17, 76-86.
2. Morita H, Moro K and Koyasu S. Innate lymphoid cells in allergic and nonallergic inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2016, 138, 1253-1264.
3. Kabata H, Moro K, Koyasu S, Fukunaga K, Asano K, Betsuyaku Mechanisms to Suppress ILC2-induced Airway Inflammation. *Ann Am Thorac Soc*. 2016, 13, Suppl 1:S95.

4. 加畑宏樹、福永興壺 グループ 2 自然リンパ球 (ILC-2) と呼吸器疾患 分子呼吸器病, 2017, 1, 8-11
5. 馬場里英、福永興壺. 呼吸器疾患と慢性炎症: 呼吸器炎症と脂質メディエーター. 別冊 Bio Clinica. , 2017, 6(1), 16-21

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 卵白アルブミン(OVA)喘息マウスモデルにおけるエイコサペンタエン酸(EPA)代謝産物の有用性の検討、ポスター、持丸貴生、福永興壺、宮田純、松坂雅子、正木克宜、田野崎貴絵、大塚健悟、上田壮一郎、加川志津子、加畑宏樹、鈴木雄介、磯部洋輔、有田誠、別役智子. 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会. 2016 年 4 月、国内
2. 真菌性好酸球性炎症に対する抗炎症性脂質メディエーター リポキシン A4 の効果、ポスター、田野崎貴絵、福永興壺、加川志津子、加畑宏樹、持丸貴生、松坂雅子、大塚健悟、鎌谷高志、馬場里英、上田壮一郎、別役智子、第 56 回日本呼吸器学会学術講演会、2016 年 4 月、国内
3. 吸入ステロイド使用中の COPD 患者における真菌感作の検討、ポスター、馬場里英、福永興壺、田野崎貴絵、中鉢正太郎、鎌谷高志、大塚健悟、松坂雅子、持丸貴生、上田壮一郎、別役智子. 第 56 回 日本呼吸器学会学術講演会、2016 年 4 月、国内
4. ILC2 抑制効果を持つ高脂血症治療薬を用いた喘息モデルマウスでの検討、ポスター、鎌谷高志、福永興壺、松坂雅子、加畑宏樹、田野崎貴絵、持丸貴生、馬場里英、大塚健悟、上田壮一郎、別役智子 第 56 回 日本呼吸器学会学術講演会、2016 年 4 月、国内
5. アレルギー性炎症：分子病態の多様性、口頭、加畑宏樹、茂呂和世、福永興壺、別役智子、第 56 回日本呼吸器学会学術講演会、2016/4/8、国内.
6. 臨床につながる基礎研究の進め方、口頭、茂呂和世、70 回日本口腔科学会学術集会、2016/4/11、国内
7. 網羅的脂質解析を用いた抗炎症性エイコサペンタエン酸(EPA)代謝産物の探索、口頭、持丸貴生、福永興壺、宮田純、松坂雅子、田野崎貴絵、大塚健悟、鎌谷高志、馬場里英、上田壮一郎、加川志津子、正木克宜、加畑宏樹、鈴木雄介、磯部洋輔、有田誠、別役智子、第 65 回日本アレルギー学会学術大会、2016 年 5 月、国内
8. 寄生虫感染における自然免疫の終息と獲得免疫の惹起メカニズム、口頭、茂呂和世、第 81 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2016/5/14、国内
9. Anti-inflammatory effect of an eicosapentaenoic acid metabolite on airway inflammation in a murine model of ovalbumin-induced asthma. ポスター、Takao Mochimaru, Koichi Fukunaga, Jun Miyata, Masako Matsusaka, Katsunori Masaki, Hiroki Kabata, Yusuke Suzuki, Yosuke Isobe, Makoto Arita, and Tomoko Betsuyaku. American Thoracic Society Conference, 5/15/2016, 国外
10. Age at onset and adherence to ICS controller therapy among moderate to severe asthmatics. ポスター、Katsunori Masaki, Koichi Fukunaga, Takashi Kamatani, Rie Baba, Takae Tanosaki, Kengo Ohtsuka, Masako Matsusaka, Takao Mochimaru, Hiroki Kabata, Soichiro Ueda, Yusuke Suzuki, Koichiro Asano, Tomoko Betsuyaku. American Thoracic Society. 5/15/2016, 国外

11. RNA シークエンスによる ILC2 の特異的遺伝子発現の探索、口頭、小林貴人、小安重夫、茂呂和世、第 26 回 Kyoto T Cell Conference、2016/5/21、国内
12. 消化管炎症における ILC2 の機能、口頭、宮島優里奈、茂呂和世、第 26 回 Kyoto T cell Conference、2016/5/21、国内
13. ILC2 におけるサイトカイン遺伝子の発現制御、口頭、本村泰隆、小安重夫、茂呂和世、第 26 回 Kyoto T Cell Conference、2016/5/21、国内
14. ILC-2 を介した喘息病態に対する高脂血症治療薬の有効性の検討、口頭、鎌谷高志、福永興壹、松坂雅子、加畑宏樹、田野崎貴絵、加川志津子、持丸貴生、馬場里英、大塚健悟、上田壮一郎、田中健一郎、茂呂和世、別役智子、第 65 回日本アレルギー学会学術大会、2016 年 6 月、国内
15. 吸入ステロイド (ICS) 使用中の非喘息合併 COPD 患者におけるアスペルギルス感作の検討、口頭、馬場里英、福永興壹、田野崎貴絵、中鉢正太郎、鎌谷高志、大塚健悟、松坂雅子、持丸貴生、上田壮一郎、別役智子、第 65 回日本アレルギー学会学術大会、2016 年 6 月、国内
16. 選択的 1 細胞回収による NH 細胞の 2 型サイトカイン応答における遺伝子発現解析、口頭、田中優実子、白崎善隆、宮田楓、山岸舞、鈴木信勇、小原收、茂呂和世、上村想太郎、第 68 回日本細胞生物学会大会&第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会合同大会、2016/6/15、国内
17. NH 細胞による 2 型サイトカイン応答の 1 細胞分泌動態解析、口頭、宮田楓、白崎善隆、鈴木信勇、山岸舞、小原收、茂呂和世、上村想太郎、第 68 回日本細胞生物学会大会&第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会合同大会、2016/6/17、国内
18. ILC2 による好酸球性炎症誘導機構、口頭、茂呂和世、第 65 回日本アレルギー学会学術大会、2016/6/18、国内
19. 脂質メディエーターと気道アレルギー、口頭、福永興壹 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 2016/6/18、国内
20. ステロイド抵抗性の喘息病態口頭、福永興壹、第 36 回六甲カンファレンス 2016 年 7 月、国内
21. 免疫システムにおけるサイトカイン分泌の 1 細胞解析、口頭、白崎善隆、東邦大学医学部第 10 回生化学セミナー、2016/7/13、国内
22. Suppression mechanism of Group 2 innate lymphoid cells、口頭、Kazuyo Moro、FASEB IgE and Allergy 50 Years & Onward 、2016/7/26、国外
23. 2 型自然リンパ球と疾患、口頭、茂呂和世、ABC の会 2016 夏開催、2016/8/5、国内
24. Balance of environmental factors modulates cell fate decision of adaptive lymphocytes and innate lymphoid cells、口頭、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、16th International Congress of Immunology、8/26/2016、国外
25. 2 型自然リンパ球と喘息、口頭、茂呂和世、Molecular Cardiovascular Conference II、2016/9/2、国内
26. 真菌感作陽性の中等症・重症喘息患者の臨床的特徴 (Keio-SARP)、口頭、正木克宜、福永興壹、松坂雅子、加畑宏樹、田野崎貴絵、持丸貴生、鎌谷高志、大塚健悟、馬場里英、上田壮一郎、鈴木雄介、浅野浩一郎、別役智子。アレルギー・好酸球研究会 2016 年 10 月、国内
27. 2 型自然リンパ球の役割、口頭、茂呂和世、第 44 回日本臨床免疫学会総会、2016/9/8、国内
28. ILC2 をターゲットとした喘息治療の展望、口頭、茂呂和世、第 53 回日本小児アレルギー学会、2016/10/9、国内

29. Novel Compensation method for Gene Expression Fluctuation by Real-time Single-cell Selection、ポスター、Yumiko Tanaka, Yoshitaka Shirasaki, Mai Yamagishi, Kaede Miyata, Nobutake Suzuki, Osamu Ohara, Kazuyo Moro, Sotaro Uemura、CBI Annual Meeting 2016, The Chem-Bio Informatics Society、2016/10/25、国内
30. 実時間 1 細胞分泌測定から見た免疫細胞サイトカイン産生の多様性、口頭、白崎善隆、CBI 学会 2016 年大会、2016/10/27、国内
31. ILC2 と 2 型免疫応答、口頭、茂呂和世、第 3 回六甲医学研究会、2016/10/28、国内
32. グループ 2 自然リンパ球における IL-4 産生機構、ポスター、本村泰隆、小安重夫、茂呂和世、第 3 回六甲医学研究会、2016/10/28、国内
33. 2 型自然リンパ球の分化機構の解明、ポスター、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、六甲医学研究会、10/28/2016、国内
34. IL-7 と Notch シグナルにおける 2 型自然リンパ球運命決定機構の解明、ポスター、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、Frontiers in aging research toward healthy longevity、11/17/2016、国内
35. グループ 2 自然リンパ球による IL-4 を介した免疫応答の制御機構、ポスター、本村泰隆、小安重夫、茂呂和世、老化シンポジウム、2016/11/17、国内
36. The role of BMP in innate lymphocytes、ポスター、宮島優里奈、茂呂和世、Frontiers in aging research toward healthy longevity、2016/11/17、国内 1 細胞実時間分泌計測及び 1 細胞選択的回収法による免疫細胞の不均一性の解析、口頭、上村想太郎、細胞を創る研究会、2016/11/21、国内
37. 1 細胞実時間分泌計測及び 1 細胞選択的回収法による免疫細胞の不均一性の解析、口頭、上村想太郎、シナプス研究会 2016、2016/11/22、国内
38. Single cell Gene expression Analysis of Stimulated immune cells with Real-time Selection、ポスター、Yumiko Tanaka, Yoshitaka Shirasaki, Mai Yamagishi, Kaede Miyata, Nobutake Suzuki, Osamu Ohara, Kazuyo Moro, Sotaro Uemura、The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan、2016/11/25、国内
39. Real-time Tracking of Single-cell Secretion Response of Peripheral Blood Type2 Innate Lymphoid Cells、ポスター、Kaede Miyata, Yoshitaka Shirasaki, Nobutake Suzuki, Hiroki Kabata, Mai Yamagishi, Osamu Ohara, Koichi Fukunaga, Kazuyo Moro, Sotaro Uemura、The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan、2016/11/25、国内
40. 可溶性因子を解した免疫細胞相互作用の 1 細胞モニタリング、口頭、白崎善隆、第 54 回日本生物物理学会年会、2016/11/27、国内
41. Regulation of IL-4 production in Group2 innate lymphoid cells、ポスター、Yasutaka Motomura、Shigeo Koyasu, Kazuyo Moro、Innate lymphoid cells - 2016、2016/12/1、国外
42. Characterization of group 2 innate lymphoid cells in glandular tissue、口頭、小林貴人、小安重夫、茂呂和世、第 45 回日本免疫学会学術集会、2016/12/5、国内
43. Function of ILC2 in intestinal inflammation、口頭、宮島優里奈、茂呂和世、第 45 回日本免疫学会学術集会、2016/12/5、国内
44. Peripheral tissue-mediated microenvironmental factors optimize cell fate decision and terminal differentiation of ILC2、口頭、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、第 45 回日本免疫学会学術集会、12/5/2016、国内

45. Regulation of IL-4 production in Group2 innate lymphoid cells、口頭、Yasutaka Motomura、Shigeo Koyasu、Kazuyo Moro、第 45 回日本免疫学会学術集会、2016/12/6、国内
46. 今さら聞けない ILC、口頭、茂呂和世、第 3 回総合アレルギー講習会、2016/12/17、パシフィコ横浜
47. Terminal development of tissue-resident ILC2 occur in peripheral tissue、ポスター、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、The 19th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience、1/20/2017、国内
48. Role of Group 2 innate lymphoid cells in chronic allergic disorders、ポスター、本村泰隆、小安重夫、茂呂和世、The 19th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience、2017/1/20、国内
49. Regulation of IL-4 production in Group2 innate lymphoid cells、口頭、Yasutaka Motomura、Shigeo Koyasu、Kazuyo Moro、15th Cytokines & Inflammation Conference、2017/2/6、国外
50. 2 型自然リンパ球によるアレルギー発症機構、口頭、茂呂和世、第 18 回京都アレルギークロストーク、2017/2/16、国内
51. Characterization of group 2 innate lymphoid cells in glandular tissue、ポスター、小林貴人、茂呂和世、7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference、2017/3/15、国内
52. Regulation of IL-4 production in Group2 innate lymphoid cells、口頭、Yasutaka Motomura、Shigeo Koyasu、Kazuyo Moro、7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference、2017/3/16、国内
53. Peripheral tissue-mediated microenvironmental factors optimize terminal differentiation of ILC2、口頭、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference、3/16/2017、国内
54. Function of BMP2 and BMP7 produced by ILC2 in the adipose tissue、ポスター、宮島優里奈、茂呂和世、7th International Workshop of Kyoto T cell Conference、2017/3/16、国内
55. 2 型自然リンパ球と喘息、口頭、茂呂和世、第 2 回肺トランスレーショナルリサーチ、2017/3/18、国内 1 細胞分泌動態計測による細胞不均一性の解析、口頭、上村想太郎、JST 生命動態合同シンポジウム、2017/3/18、国内
56. 末梢組織における 2 型自然リンパ球分化機構の解明、口頭、古賀諭、穂積勝人、平野健一、矢沢正樹、小安重夫、茂呂和世、第 26 回東京免疫フォーラム、3/23/2017、国内
57. Group 2 innate lymphoid cell and allergic inflammation、口頭、Kazuyo Moro、Advances in Targeted Therapies Meeting、2016/3/29、国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 横浜市立大学主催の学生、一般市民向けの実験教室、古賀諭、茂呂和世、横浜市立大学生命医科学研究科バイオエキスパート 2016/6/25、国内
2. 科学未来館で開催される一般市民に向けたトーク・アトラクション・パネル展示イベント、本村泰隆、古賀諭、茂呂和世、日本免疫学会主催「免疫ふしぎ未来 2016」実行委員、2016/8/7、国内
3. 理研横浜キャンパスで開催される一般市民向けトーク・アトラクション・パネル展示イベント、本村泰隆、古賀諭、茂呂和世、理化学研究所 一般公開、9/23/2016、国内

4. 鳥取環境大学主催のサイエンスカフェにおけるトーク、茂呂和世、鳥取サイエンスカフェ、2016/11/20、国内
5. 1細胞実時間分泌計測及び1細胞選択的回収法による免疫細胞の不均一性の解析、上村想太郎、第27回科学技術交流フォーラム「基礎生物学の極み」、2017/2/17、国内

(4) 特許出願

特になし