

新たに発見した“ナチュラルヘルパー細胞”の機能解明

Functional analysis of newly identified “Natural Helper” cells

小安 重夫 (KOYASU SHIGEO)

(独) 理化学研究所・統合生命医科学研究センター・センター長代行



研究の概要

新しい自然免疫系のリンパ球である「ナチュラルヘルパー (NH) 細胞」の分化経路を解明するとともに、寄生虫感染や食物アレルギーにおける NH 細胞の機能解析を行うことで自然免疫機構における NH 細胞の役割を明らかにする。

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：サイトカイン、リンパ球、自然免疫、アレルギー・免疫関連疾患

1. 研究開始当初の背景

我々は腹腔内の脂肪組織にリンパ節とは異なるリンパ球の集積を見だし、fat-associated lymphoid cluster (FALC) と名付けた。FALC には T 細胞、B 細胞、マクロファージなどに加え、既知の細胞系譜マーカー (CD3, CD4, CD8 α , TCR β , TCR δ , CD5, CD19, B220, NK1.1, TER119, Gr-1, Mac-1, CD11c, Fc ϵ RI α) を持たず、c-Kit, Sca-1, IL-7 受容体、IL-33 受容体を発現する細胞が存在することを明らかにし、ナチュラルヘルパー (Natural Helper: NH) 細胞と名付けた。NH 細胞は寄生虫感染やアレルギーで上皮細胞などから産生が見られる IL-25 や IL-33 に反応することで、多量の Th2 サイトカイン、特に IL-5 と IL-13 を産生する新しい自然免疫系のリンパ球であることが明らかになっている。さらに、NH 細胞は恒常的に微量の Th2 サイトカインを産生することで腹腔 B1 細胞の自己複製を助け、B 細胞による IgA 産生を促進する。

2. 研究の目的

本研究では、NH 細胞の分化経路、感染やアレルギーにおける機能を明らかにすることを旨とする。

これまでの研究から、寄生虫感染初期の自然免疫反応の時期に速やかに Th2 サイトカインが産生されることは知られていたが、それがどのような細胞によるかは不明であった。我々の研究から、この Th2 サイトカイン

産生細胞が NH 細胞であることが明らかになった。そこで、本研究を遂行することで、寄生虫感染防御機構における自然免疫系と獲得免疫系の役割分担を明らかにする。

また、Th2 サイトカインはアレルギー反応においても重要であり、IL-13 による杯細胞の過形成を介したムチン産生は喘息においても見られ、また IL-5 による好酸球の増多は多くのアレルギー反応において観察される。本研究により、NH 細胞のアレルギー疾患、例えば食物アレルギーにおける自然免疫系の機能に関して新たな知見が得られると期待している。

NH 細胞の役割を調べることは別に、NH 細胞がどのような前駆細胞から分化するかを明らかにすることも重要である。そこで、本研究では、NH 前駆細胞を同定すると共に、どこで、どのような刺激を受け、どのような遺伝子発現を介して成熟 NH 細胞となるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

NH 細胞の分化経路に関しては、IL-7 や IL-7 受容体、c-Kit や c-Kit のリガンドである SCF の変異マウス、IL-7 受容体や c-Kit の中和抗体、c-Kit の阻害剤、などを駆使して IL-7 受容体経路と c-Kit 経路の機能を明らかにする。また、骨髄における NH 細胞の前駆細胞の同定やその移動経路、脂肪組織由来のサイトカインの機能などに注目し、なぜ脂肪組織に NH 細胞が集積するかなどを明らか

にする。

NH 細胞の機能に関しては、獲得免疫系と NH 細胞の相互作用に注目する。様々なサイトカインが NH 細胞に働きかけて Th2 サイトカインを誘導するが、なかでも IL-33 は強力に Th2 サイトカインを誘導する。同様に IL-2 と IL-25 は相乗的に作用して IL-33 と同程度の強力なサイトカイン誘導能を示す。これらのサイトカインや受容体の欠損マウスを用い、これらのマウス由来の NH 細胞の機能を検討することでそれぞれのサイトカインを介した NH 細胞の機能を明らかにする。獲得免疫系の T 細胞や B 細胞のみならず、自然免疫系の NK 細胞も持たない $\gamma_c^{-/-}$ Rag2^{+/+}マウスは NH 細胞も欠損する。そこでこのマウスをレシピエントとし、T 細胞や NH 細胞を含む様々な細胞を移植したのちに寄生虫感染やアレルギー反応を誘導することで NH 細胞と他の細胞系譜との機能的関係を明らかにする。

4. これまでの成果

NH 細胞が骨髄や胎児肝臓に存在する造血幹細胞 (Hematopoietic Stem Cell: HSC) 由来の細胞で Lymphoid-primed Multipotent Progenitors (LMPP) や Common lymphoid progenitor (CLP) から、IL-7 と Notch シグナル依存的に分化する事、一方で IL-25 や IL-33 は必須ではないことが明らかになった。また、転写因子 GATA3 を欠損させると NH 細胞の分化が障害されることが明らかになった。GATA3 は分化のみならず、NH 細胞の Th2 サイトカイン産生や増殖にも重要であることも明らかにした。一方、GATA-3 と同様に NH 細胞の高発現する ROR α は分化には関わりますが、サイトカイン産生には関わらないことが明らかになった。

寄生虫 (*Nippostrongylus brasiliensis*) 感染において、感染した虫体は肺を経由して後に腸管へいたるが、この肺ステージにおいて好酸球増多が観察され、この好酸球増多が寄生虫に対する感染防御において重要であることが知られる。NH 細胞を欠損する γ_c Rag-2 ダブルノックアウトマウスにおいては肺における好酸球浸潤がみられないが、そこへ野生型マウス由来の NH 細胞を移入することで好酸球増多が回復することが明らかになった。この NH 細胞による好酸球誘導機構は寄生虫感染では虫体排除の方向になるが、喘息などのアレルギー疾患では病態悪化因子となることが分かっている。

NH 細胞が最初に腹腔内で見いだされ、消化管寄生虫感染の初期防御に重要であることが明らかになったことから、食物アレルギーにおける機能も興味を持たれ、これまでに NH 細胞の関与を示唆する結果を得ており、さらに検討中である。

我々が NH 細胞を報告した後に、Th2 サ

イトカインを産生する類似の細胞が相次いで報告され、特にその中の nuocyte と名付けられた細胞は NH 細胞と共通点が多かった。しかし、NH 細胞に発現が見られる CD25 は nuocyte には見られず、nuocyte に発現する class II MHC は NH 細胞には発現しないなどの違いがあることが明らかになった。また、nuocyte は IL-25 単独に反応するが、NH 細胞は IL-2 存在下でのみ IL-25 に反応することも明らかになった。野生型の NH 細胞を、コンジェニックマーカーを持つマウスに移植した後に IL-25 を投与したところ、レシピエントマウスの nuocyte と思われる細胞がリンパ節へ出現したが、移植した NH 細胞がリンパ節へ移動することはなかった。IL-33 の投与では、nuocyte と思われる細胞はほとんど出現しなかったが、一方で、腸管膜における NH 細胞の数は増大した。この場合にも NH 細胞はリンパ節には移動しなかった。以上のことから、NH 細胞と nuocyte は異なる細胞であると結論した。

5. 今後の計画

IL-25 欠損マウスや IL-33 欠損マウスにおいても NH 細胞の分化が見られたが、これらのサイトカインが補完的に作用する可能性や IL-25 と IL-33 の同時刺激が必要な可能性がある。そこで現在、IL-25、IL-33 ダブルノックアウトマウスを作製中であり、両サイトカインが欠損した時の *in vivo* での NH 細胞分化を明らかにする予定である。

これまでの研究から NH 細胞の寄生虫感染時における Th2 型反応と、アレルギーにおける Th2 型反応は IL-33 を介した同一のサイトカイン産生機構によって制御されていることが予想される。アレルギーや寄生虫感染では定常時に脂肪組織に多く存在する NH 細胞が肺や小腸に多数出現する。この炎症局所に現れた NH 細胞の遊走機構を明らかにすることが重要と考えている。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Koyasu, S. and Moroi, K. (2012) Role of Innate lymphocytes in infection and inflammation. *Front. Immunol.* 3: 101.
12. Koyasu, S., Moroi, K., Tanabe, M. and Takeuchi, T. (2010) Natural Helper Cells: a new player in the innate immune response against helminth infection. *Adv. Immunol.* 108: 21-44.

ホームページ等

<http://www.ims.riken.jp/laboratories/>