

平成 31 年 4 月 27 日

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 30 年度

受付番号 201860675

氏 名 加 加 良 村

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地：ニューヨーク（国名：アメリカ）2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。喘息における TSLP-elicited 好塩基球の役割の検討3. 派遣期間：平成 30 年 4 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 30 日

4. 受入機関名及び部局名

Weill Cornell Medicine, Department of Microbiology and Immunology5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**

(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)

(注)「6. 研究発表」以降については様式 10—別紙 1～4 に記入の上、併せて提出すること。

1. 喘息における TSLP と好塩基球の役割に関して

はじめに、TSLP 受容体欠損マウスを用いて、どのような喘息モデルマウスにおいて TSLP が重要な役割を担っているか検討した。その結果、古典的な獲得免疫を介した喘息モデルマウスである卵白アルブミン(OVA)による喘息モデルマウスでは、TSLP 受容体欠損マウスで好酸球性気道炎症が著明に抑制されることが判明した。また、自然免疫を介した喘息モデルマウスであるパピインによる喘息モデルマウス及びアルテルナリアによる喘息モデルマウスにおいても、TSLP 受容体欠損マウスでは好酸球性気道炎症が抑制されることから、TSLP は自然免疫と獲得免疫の両方の免疫応答を介した喘息モデルマウスにおいて重要な働きをしていることが明らかとなった。一方、ダニ抗原を用いた喘息モデルマウスでは TSLP 受容体欠損マウスでも炎症反応はほとんど抑制されなかった。これらの喘息モデルマウスはいずれも 2 型サイトカインの上昇と好酸球性気道炎症を認めるモデルであったが、抗原や刺激によって TSLP に対する依存度が異なることが示唆された。また、前述の OVA 喘息モデルマウスに LPS を同時に投与するこ

とで、Th2 細胞と Th17 細胞の両方を誘導する喘息モデルマウスを作成したが、TSLP 受容体欠損マウスにおいて Th17 細胞は抑制されず、TSLP は主に 2 型炎症にしか寄与しないことが確認された。

次に、留学先の研究室では TSLP によって誘導される好塩基球(TSLP-elicited 好塩基球)に注目して研究をおこなっており、前述の喘息モデルマウスを用いて TSLP-elicited 好塩基球の役割について検討することとした。これまでに、好塩基球がパパインや OVA による喘息モデルマウスにおいて重要な役割を担っていることは既に報告されているが、その機序として TSLP-elicited 好塩基球が関与しているかは明らかになっていない。我々も BasTRECK マウスというジフテリア毒素によって好塩基球を除去するマウスを使用したところ、パパインによる喘息モデルマウスの好酸球性炎症は好塩基球を欠損すると著明に減弱すること確認した。

我々は、TSLP が生体内でどの細胞を介して 2 型炎症を誘導しているかを明らかにするために、Cre/LoxP システムを用いて細胞特異的な TSLP 受容体欠損マウスを作成することとした。具体的には、細胞特異的に Cre を発現するマウス(Zbtb46 Cre、Mcpt8 Cre、IL-7R Cre、CD4 Cre、RED5 Cre)と TSLPR floxed マウスを掛け合わせることで、それぞれ樹状細胞、好塩基球、リンパ球、CD4+ T 細胞、ILC2 に特異的な TSLP 受容体欠損マウスを作成した。

これらのマウスを利用し、自然免疫を介したパパイン喘息モデルマウスにおける細胞特異的 TSLP 受容体欠損マウスの実験を行った。しかし、予想に反して好塩基球特異的 TSLP 受容体欠損マウスでは 2 型炎症は抑制されず、本病態において TSLP-elicited 好塩基球の関与は証明できなかった。続いて、獲得免疫を介した OVA 喘息モデルマウスにおいても好塩基球特異的 TSLP 受容体欠損マウスの実験を行ったが、同様に好塩基球特異的 TSLP 受容体欠損マウスでは 2 型炎症が抑制されず、獲得免疫の病態においても TSLP-elicited 好塩基球の関与は証明できなかった。

そのため、他の細胞特異的 TSLP 受容体欠損マウスを用いて再度検討を行った結果、パパイン喘息モデルマウスではリンパ球及び ILC2 特異的 TSLP 受容体欠損マウスで 2 型炎症の抑制を認め、OVA 喘息モデルマウスでは樹状細胞、リンパ球及び CD4+ T 細胞特異的 TSLP 受容体欠損マウスにて 2 型炎症の抑制が見られたことから、TSLP は病態によって異なる細胞を介して 2 型炎症を誘導していることが明らかとなったが、TSLP-elicited 好塩基球の関与は証明されなかった。今回、2019 年 4 月から日本における就職が決まったため、当初の予定を短縮して帰国となったため、2 年目以降の研究は実施できなかった。本研究結果については、自然免疫と獲得免疫における TSLP の生体内での経路の検討として現在論文投稿中である。

2. Mycobiome と喘息の関連について

我々は真菌が喘息病態に与える影響を検討するために、ダニ誘導喘息モデルマウスに抗真菌薬(フルコナゾール)を投与し、好酸球性炎症に与える影響について検討した。その結果、フルコナゾールを投与したマウスではダニによる好酸球性気道炎症が悪化することが判明した。腸管内で真菌を貪食する細胞として、CX3CR1 を発現する貪食細胞が知られていることから、

CD11c Cre マウスと CX3CR1^{DTR} マウスを掛け合わせることで、ジフテリア毒素によって CX3CR1 陽性貪食細胞を欠損させるマウスを作成した。興味深いことに、このマウスでは肺における CX3CR1 陽性貪食細胞は減少しないが、腸管でのみ CX3CR1 陽性貪食細胞が減少した。さらに、このマウスではフルコナゾールによるダニ誘導喘息モデルマウスの炎症増強効果が見られなかったことから、腸内での真菌及び真菌を貪食する細胞が肺における気道炎症に関与していると考えられた。本研究結果は腸管免疫と気道免疫をつなげる新しい報告であるとして、*Cell Host Microbe* 誌に掲載され、表紙にも取り上げられた。

3. Microbiome が全身の免疫反応に与える影響について

我々は腸内細菌が全身の免疫反応に与える影響について検討し、腸管における制御性 T 細胞の誘導機序に注目した。制御性 T 細胞の誘導には IL-2 が重要な働きをしているが、どのような細胞が IL-2 の産生源となっているかに関してははっきりした報告がなかった。そのため、腸管内における IL-2 の産生源を調べるため、小腸及び大腸における IL-2 産生細胞を評価した。その結果、小腸において ILC3 が IL-2 の主要な産生源となっていることが明らかとなった。そこで、ILC3 特異的に IL-2 の産生を欠損させたマウスを作成し、制御性 T 細胞や全身の免疫反応に与える影響を検討した。その結果、ILC3 からの IL-2 産生を欠損したマウスでは腸管内の制御性 T 細胞が減少していることが明らかとなった。さらに、OVA モデルにおいて OVA を経口投与すると制御性 T 細胞が誘導され、その後の OVA 抗原に対する免疫反応が抑制されることが知られており、経口免疫寛容と呼ばれているが、ILC3 特異的に IL-2 産生を欠損したマウスではこの経口免疫寛容が誘導されず、OVA による免疫反応が抑制されなくなることが明らかとなった。本研究結果は、ILC3 が制御性 T 細胞を介して全身性の免疫反応を制御する新しい機序と考えられ、*Nature* 誌に掲載された。

4. ILC2 の調節因子に関する総説

2010 年に新しい免疫細胞として ILC2 が発見され、以降 ILC2 がアレルギー性疾患をはじめとした様々な疾患に関与していることが明らかになりつつある。ILC2 に対する活性化因子や抑制因子が数多く報告されているが、これまで包括的に整理された総説は存在しなかった。そこで、我々は、ILC2 に対して影響を与えることが報告されているサイトカイン、脂質メディエーター、神経ペプチド、ホルモンなどを細胞内シグナル伝達経路も含めて分類を行い、総説として *Immunological Review* 誌に掲載された(図 1)。本総説は ILC2 を研究する研究者にとって非常に有益な総説であると思われる。

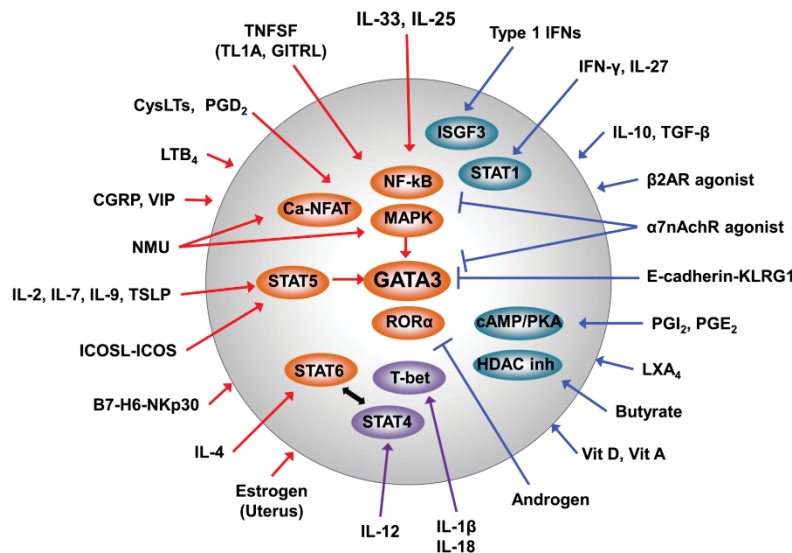


図 1. ILC2 の調節因子

5. 神経と免疫に関する総説

これまで、異物の排除や感染防御、生体の恒常性維持のため、免疫反応が重要な働きをしていると考えられてきたが、神経による反射(くしゃみ、咳、かゆみ、蠕動運動亢進による下痢など)も重要な役割を担っていると考えられている。近年、免疫と神経は独立して機能しているのではなく、お互いに影響を及ぼしあっていると考えられている。そこで、免疫と神経が生体内でどのように関連し、気管支喘息の病態にどのように関連しているかについて総説をまとめ、JCI 誌に掲載された (図 2)。

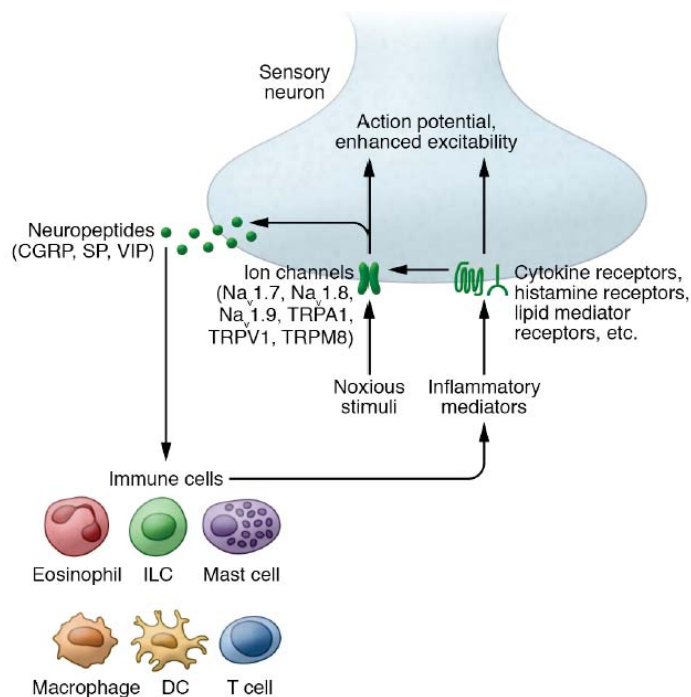


図 2、免疫と神経の相互作用