

2 型自然リンパ球による特発性間質性肺炎発症機構の解明

Role of ILC2 in idiopathic interstitial pneumonia

課題番号：18H05286

茂呂 和世 (MORO KAZUYO)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

本研究では、肺線維症自然発症マウスを Single cell RNA-Sequencing (scRNA-seq) によって解析することで、未発症→発症→重症化という線維化の流れにおいて ILC2 をはじめとする多様な細胞がどのように変化していくのかをダイナミックに描き出し、将来的に特発性間質性肺炎の新規治療法開発につながる研究基盤構築を目指す。

研究分野：呼吸器、免疫

キーワード：特発性間質性肺炎、ILC2

1. 研究開始当初の背景

特発性間質性肺炎は肺の間質における線維化を主症状とする呼吸器疾患である。多くの研究者、臨床医が病態解明に挑んできたにもかかわらず、未だ画期的な治療法が存在しない現状は、適切なモデル動物がいないためとされてきた。我々は、特発性間質性肺炎病態を非常によく模した肺線維症自然発症マウス (IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウス) を見出した。このマウスは我々が 2010 年に報告した新しいリンパ球である 2 型自然リンパ球 (Group 2 innate lymphoid cell: ILC2) が抑制機構の欠落により過剰に活性化するマウスである。特発性間質性肺炎に関する研究は抗がん性抗生物質として知られるブレオマイシンを気管内に投与するモデルマウスを用いて進められてきた。ブレオマイシン誘導性線維症モデルマウスによって線維化機構の理解が大幅に進んだことは事実であるが、特発性間質性肺炎患者と病態が大きく異なる事が問題とされており、病態の発症機構を理解するために適したマウスとは言えない。そこで本研究では、特発性間質性肺炎の発症機構を理解し、将来治療法開発のターゲットとなる病因因子を同定するために、肺線維症自然発症マウスである IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスを用いて scRNA-seq 解析を行うことで、新たな視点から本疾患の発症機構解明に挑む。

2. 研究の目的

IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスを用いて特発性間質性肺炎の発症に関わる細胞、因子を明らかにすることで、発症機構の全貌を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では異なる週齢の IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスの肺を、近年注目されている scRNA-Seq で解析することで、肺を構成するすべての細胞の存在率、各細胞が高発現する遺伝子を読み取る。scRNA-seq 解析によって線維化の発症前から発症、進行、増悪化に関わる細胞や因子を経時的に読み取り、線維化の進行過程において、どの時期にどのような細胞同士がどのような因子によって相互作用を持つかを調べ、これまで報告されてきた点と点がどのような順番で線をなすことで病態という立体が形成されるのかを明らかにする。さらに、scRNA-seq 解析ではトラジェクトリー解析を行うことで、正常な線維芽細胞から分化すると予想される病原性線維芽細胞の同定にも挑む。

scRNA-seq 解析で得られたデータをもとに、種々の遺伝子改変マウスや阻害薬を用い、ILC2 の産生する線維化増悪因子の同定、加齢因子の同定、ILC2 活性化因子の同定、疾患の慢性化機構の解明を行い、本疾患の発症機構を明らかにする。また、ILC2 と線維芽細胞の共培養系を用いることで、ILC2 と線維芽細胞の相互作用を明らかにし線維化の発症・増悪機構を明らかにする。

4. これまでの成果

scRNA-seq 解析により、肺の細胞は 28 クラスターに分けられたが、このうち、線維化発症前後で大きな変動を示す細胞群として、ILC サブセット、2 つのマクロファージ

ジサブセット、2つの線維芽細胞サブセットが検出された。線維芽細胞サブセットに関してはトラジェクトリー解析を行った結果、線維芽細胞の中でもコラーゲンを高発現する病原性線維芽細胞を同定した。正常線維芽細胞と病原性線維芽細胞の遺伝子発現量比較解析から、新規バイオマーカー候補が2遺伝子同定された。

疾患のトリガーとなる因子の探索を行った結果、IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスの病巣部で限局したIL-33発現亢進が起きていることが明らかになった。そこで、IL-33欠損マウスをIFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスに掛け合わせたところ、このマウスでは線維化が起きないことが明らかになった。IL-33反応性細胞としてILC2が予想されたため、ILC欠損マウスをIFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスと掛け合わせたところ、線維化が起きないことが明らかになった。これらの結果から、IL-33によって活性化したILC2が線維化発症に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスの線維化は16週齢頃に起こるが、線維化が始まる前からILC2の活性化が起きていることも明らかになった。いったん線維化が発症したマウスにはステロイドが効かないが、ILC2が活性している初期にステロイドで抑制すると、線維化の発症自体が起きない事も明らかになった。この結果は、特発性間質性肺炎は線維化の前に起こる炎症状態を阻止することで線維化が起これなくなることを示しており、早期に疾患を発見できるバイオマーカーの創出が重要であることを示している。

5. 今後の計画

現在終了しているマウスでのscrRNA-seq解析に加え、特発性間質性肺炎患者検体のscrRNA-seq解析を行うことで、創薬ターゲットの同定を目指す。特発性間質性肺炎検体の収集・解析はすでに始めており、IFN γ R^{-/-}Rag-2^{-/-}マウスで得られた知見が種を超えて重要なものであるかを検証しながら今後の解析をすすめる。

特発性間質性肺炎の発症には複数の要因が重なる必要があると考えている。一般的に考えられている喫煙や加齢などの因子に加え、メカニカルストレスや他疾患からの影響についても解析することで、肺線維化がどのような条件で発症するのか、詳細なメカニズムを明らかにしていく。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Miyajima Y, Ealey NK, Motomura Y, Mochizuki M, Takeno N, Yanagita M, Economides AN, Nakayama M, Koseki H, Moro K; Effects of BMP7 Produced by Group 2 Innate Lymphoid Cells on Adipogenesis. *International immunology*. Online (2020)

2. Kabata H, Moro K, Koyasu S; The group 2 innate lymphoid cell (ILC2) regulatory network and its underlying mechanisms. *Immunological reviews*. 286 (1)37-52 (2018)

3. Kobayashi T, Voisin B, Kim DY, Kennedy EA, Jo JH, Shih HY, Truong A, Doebel T, Sakamoto K, Cui CY, Schlessinger D, Moro K, Nakae S, Horiuchi K, Zhu J, Leonard WJ, Kong HH, Nagao K; Homeostatic Control of Sebaceous Glands by Innate Lymphoid Cells Regulates Commensal Bacteria Equilibrium. *Cell*. 176 (5)982-997. e916 (2019)

4. Miyamoto C, Kojo S, Yamashita M, Moro K, Lacaud G, Shiroguchi K, Taniuchi I, Ebihara T; Runx/Cbfbeta complexes protect group 2 innate lymphoid cells from exhausted-like hyporesponsiveness during allergic airway inflammation. *Nature communications*. 10 (1)447 (2019)

5. Motomura Y, Kobayashi T, Moro K; The Neuropeptide CGRP Induces Bipolar Syndrome in Group 2 Innate Lymphoid Cells. *Immunity*. 51 (4)598-600 (2019)

6. Sasaki T, Moro K, Kubota T, Kubota N, Kato T, Ohno H, Nakae S, Saito H, Koyasu S; Innate Lymphoid Cells in the Induction of Obesity. *Cell reports*. 28 (1)202-217. e207 (2019)

7. Hosokawa H, Romero-Wolf M, Yang Q, Motomura Y, Levanon D, Groner Y, Moro K, Tanaka T, Rothenberg EV; Cell type-specific actions of Bcl11b in early T-lineage and group 2 innate lymphoid cells. *The Journal of experimental medicine*. 217 (1) (2020)

8. Kobayashi T, Ricardo-Gonzalez RR, Moro K; Skin-Resident Innate Lymphoid Cells - Cutaneous Innate Guardians and Regulators. *Trends in immunology*. 41 (2)100-112 (2020)

9. Wagner M, Ealey KN, Tetsu H, Kaniwa T, Motomura Y, Moro K, Koyasu S; Tumor-Derived Lactic Acid Contributes to the Paucity of Intratumoral ILC2s. *Cell reports*. 30 (8)2743-2757. e2745 (2020)

7. ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/introduction/research/microbiology/innate>