

No.	25-2152	
Project Title	肺動脈性肺高血圧症における2型自然リンパ球の性状解析	
Principal Investigator	Masashi Ikutani (Hiroshima University・Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Kiyoshi Yamaguchi (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Associate professor)
	Project Member (s)	生谷 尚士 (広島大学・統合生命科学研究科・助教)
	Project Member (s)	中江 進 (広島大学・統合生命科学研究科・教授)
	Project Member (s)	山口 貴世志 (臨床ゲノム腫瘍学分野・准教授)
	Project Member (s)	古川 洋一 (臨床ゲノム腫瘍学分野・教授)
	Project Member (s)	井元 清哉 (健康医療データサイエンス分野・教授)

**東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】**

共同研究報告 (年次終了)

本共同研究の目的は、指定難病である肺動脈性肺高血圧症(Pulmonary arterial hypertension: PAH)の発症に関わる2型自然リンパ球(Group 2 innate lymphoid cell: ILC2)の動態を制御する分子を同定することである。PAHは、肺細動脈が肥厚により狭窄し、肺動脈圧の上昇が起こり、右心室に過度の負担を強いる予後不良な疾患である。重度の肺動脈肥厚の形成プロセスの理解がPAHの治療法開発には欠かせない。ヒトでは発症初期段階の解明が困難であるため、動物モデルが利用され研究がなされてきたが、未だPAHの病態形成プロセスの大部分が不明である。IL-33を長期投与する研究代表者のPAH動物モデルでは、肺動脈周囲にILC2が集まり、好酸球を動員し、重度の肺動脈肥厚を誘導する。ILC2集積の機序を解明することで、疾患発症の新規治療法や診断法の開発につながると期待される。

2025年度は、長期IL-33投与によるILC2の性状の変化を観察するために、マウス肺の免疫細胞のシングルセルRNAシーケンシング(scRNA-seq)を実施した。IL-33もしくはPBSを一週間に1回、合計3回、野生型マウスに投与し、広島大学のフローサイトメーターで免疫細胞を分取した。ライブラリーを作成後、東京大学医科学研究所に設置された次世代シーケンサーでscRNA-seqを行った。得られたデータを専用ソフトウェアで解析した(図1)。それぞれの免疫細胞に特徴的なマーカー遺伝子の発現で細胞のアノテーションを行った。これまでの研究結果と同様に、IL-33の投与により、ILC2、Th2細胞、マクロファージ、好酸球が増加し、好中球が減少していた。続いてILC2を解析したが、PBS投与群では解析に十分なILC2数が得られなかったために、IL-33投与群でのみの解析を行った。ILC2を遺伝子発現パターンによって分類した結果、複数の亜集団が特定された。ILC2に特徴的なサイトカインであるIL-5やIL-13、細胞分化のマスター転写因子GATA3はそれぞれの亜集団で異なる発現量を示した。これらの発現量は細胞の活性化を示すため、異なる活性化段階にある細胞集団で分類されたものと考えられる。

これまでの研究で、PAH誘導時にのみ特異的に出現するある種のインテグリンを発現するILC2の集団を同定している。この集団が肺動脈肥厚を誘導する上で重要なILC2であると位置付けている。上述のscRNA-seq解析から得られたILC2の分類と照合すると、ある特定の亜集団Aに含まれることが分かった。亜集団Aは、やはりPBS投与群では存在しておらず、長期的なIL-33による活性化を受けた場合にのみ発生することが確認された。亜集団Aは、IL-5やIL-13の発現量が低く、比較的低い活性化状態にあった。他の亜集団と比べて、サイトカインレセプターやケモカインレセプターの発現量に大きな変化はなく、シグナルの受容は同程度であると推測される。scRNA-seq解析で得られた結果をフローサイトメトリー法で確認した(図2)。特定のインテグリンを発現するILC2のIL-5産生量は低レベルであり、scRNA-seq解析と整合的な結果が得られた。

従来、ILC2は局在する臓器や組織で増殖・活性化シグナルを受け免疫応答を担うと考えられてきた。しかし、近年これまでに考えられてきた以上にILC2は肺を含む臓器間を移動していることが明らかになってきた。亜集団Aにおいて特徴的に発現する遺伝子を抽出し、インテグリンを含め動態の制御に係る分子を同定し、その機能を抑制することが、次年度の課題である。

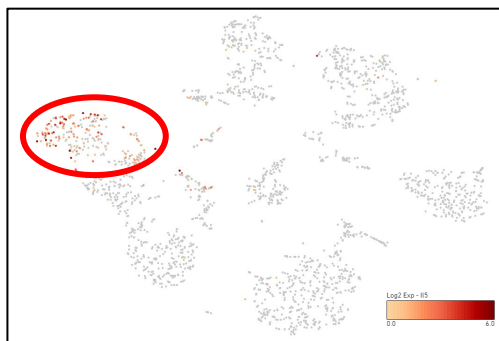


図1 肺免疫細胞の scRNA-seq の解析
IL-5 産生 ILC2 は赤枠で示す。(Loupe Browser)

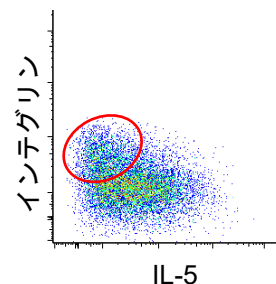


図2 肺 ILC2 の IL-5(横軸)とインテグリン
(縦軸)の発現量
インテグリン陽性 ILC2 集団を赤枠で示す。