

令和 2年 4月 30日

令和元年度研究助成実績報告書

一般財団法人日本産業科学研究所
宮地尚 理事長 殿

下記の通り一般財団法人日本産業科学研究所研究助成金の研究実績を報告致します。

申請者

氏名：波多野 良



所属：順天堂大学大学院医学研究科 免疫病・がん先端治療学講座

研究題目 新規炎症性サイトカイン IL-26 を分子標的とした炎症性腸疾患に対する
革新的治療法の開発

研究内容

Oxford 大(英)との国際共同研究で、炎症性腸疾患において大腸 CD8 T 細胞はどのようなフェノタイプをしており、それらがどのような免疫応答をしているのを解明するために、潰瘍性大腸炎(UC)患者の大腸 CD8 T 細胞の single-cell transcriptome 解析と TCR レパトア解析と mass cytometry 解析を行った。まず single-cell RNA sequence (scRNA-seq)を行い、**大腸 CD8 T 細胞が 14 もの異なる細胞集団で構成**されていることを明らかにした。14 の集団の中には naive, memory, tissue-resident memory, effector, CD4+CD8+の他に、自然免疫細胞様の特性を持つ mucosal associated invariant T (MAIT), intestinal intraepithelial lymphocyte (IEL), IL-26 産生 CD8 T 細胞などが含まれていた。UC 患者は健常者と比較して大腸 CD8 T 細胞中の tissue-resident memory の割合が大きく減少する一方で、活性化 effector と IL-26 産生 T 細胞の割合が大きく増加していた。また、IEL では natural IEL が減少し、expanded induced IEL と CD4+CD8+FOXP3+ IEL が増加していた。IL-26 はこれまでに NK 細胞や CD4 T 細胞、特に Th17 細胞から産生されることが報告されていたが、**腸管では CD8 T 細胞も IL-26 を産生し、UC 患者ではその数が顕著に増加している**ことを見出した。Gene Ontology (GO) enrichment 解析により、IL-26 産生 CD8 T 細胞は Tc17 細胞様の特性と自然免疫細胞様(Type 2 innate lymphoid cell 3)の特性を併せ持つことを明らかにした。また、IL-26 産生 CD8 T 細胞は CTLA4, PD1, TIM3, CD39, Layilin 等の co-inhibitory 分子と EOMES, TOX 等も発現していることから "exhausted" T 細胞の性質にも類似していた。TCR レパトア解析の結果、IL-26 産生 CD8 T 細胞は tissue-resident memory との TCR の重複が最も大きく、tissue-resident memory から直接派生した可能性、もしくは抗原刺激を受けて活性化した後(post-effector)のフェノタイプであることが示唆された。これらの結果は single-cell cellular indexing of transcriptomes and epitopes by sequencing (CITE-seq)によりタンパクレベルでも実証された。さらに、mass cytometry

time of flight (CyTOF)により scRNA-seq 解析で得た 39 のマーカーの発現パターンを同時解析した結果、IL-26 産生 CD8 T 細胞は IL-23R⁺, NK cell receptor (NCR) 3⁺, tissue-resident memory, “exhausted” T 細胞集団に分類された。UC 患者の大腸 CD8 T 細胞の各細胞集団の機能を解析するために、大腸 CD8 T 細胞を ex vivo で PMA plus ionomycin 刺激を行った。健常者も UC 患者も TNF と IFN γ を産生したが、多くの UC 患者 CD8 はさらに Granzyme K も発現していた。一方で、主に IL-26 産生細胞で構成される IL-23R⁺細胞は ex vivo の刺激にほとんど応答せず、IL-26 産生細胞が最終分化した post-effector な集団であるという前述の結果と一致していた。大腸炎病態における IL-26 の機能・役割はわかっていない。IL-26 は齧歯類には欠損した遺伝子であるため、炎症環境下でヒト IL-26 の発現が誘導される hIL-26BACTg マウスを用いた。hIL-26Tg マウス及び control マウスに 2.5%デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)水を自由飲水で摂取させたところ、control マウスは hIL-26Tg マウスよりも大腸炎 score が有意に高く、IL-26 がこの急性大腸炎モデルにおいて protective に働いていることを示唆していた。大腸組織の RNA-seq 解析を行った結果、定常状態において control マウスでは hIL-26Tg マウスよりも lysozyme の発現が高く、IL-26 の過剰発現は大腸粘膜のマクロファージの細胞数を減少させる可能性が考えられた。DSS 飲水による大腸炎誘発時には hIL-26Tg マウスは間質分画の遺伝子発現が上昇する一方で、炎症性サイトカインである TNF やケモカイン CXCL9, CXCL10 の発現は control マウスよりも低かった。これらの結果から、DSS 誘発性急性大腸炎モデルでは、IL-26 は大腸粘膜上皮のバリア機能を亢進することで大腸炎の制御に関わっていると予想される。今後、ヒトの炎症性腸疾患の病態を模倣した T 細胞依存的な慢性大腸炎モデルにおける IL-26 の機能解析が期待される。

助成金使途		
使 途 項 目	金 額	備 考
試薬・消耗品	48,290 円	抗体
マウス代	11,418 円	C57BL/6J マウス 6 匹
備品	208,475 円	クールインキュベーター
オーバーヘッド（間接経費）	0 円	
合 計	268,183 円	

研究業績

原著

1. Corridoni D, Antanaviciute A, Gupta T, Fawkner-Corbett D, Aulicino A, Jagielowicz M, Parikh K, Repapi E, Taylor S, Ishikawa D, **Hatano R(11/20)**, Yamada T, Xin W, Slawinski H, Bowden R, Napolitani G, Brain O, Morimoto C, Koohy H, Simmons A. Single-cell atlas of colonic CD8⁺ T-cells in inflammatory bowel disease. **Nat Med. in press**

2. Sato T, Tatekoshi A, Takada K, Iyama S, Kamihara Y, Jawaid P, Rehman MU, Noguchi K, Kondo T, Kajikawa S, Arita K, Wada A, Murakami J, Arai M, Yasuda I, Dang NH, **Hatano R(17/20)**, Iwao N, Ohnuma K, Morimoto C. DPP8 is a novel therapeutic target for multiple myeloma. Sci Rep. 2019; 9(1): 18094.
3. **Hatano R(1/11)**, Itoh T, Otsuka H, Okamoto S, Komiya E, Iwata S, Aune TM, Dang NH, Kuwahara-Arai K, Ohnuma K, Morimoto C. Characterization of novel anti-IL-26 neutralizing monoclonal antibodies for the treatment of inflammatory diseases including psoriasis. MAbs. 2019; 11(8): 1428-1442.

総説

1. Ohnuma K, **Hatano R(2/4)**, Dang NH, Morimoto C. Rheumatic diseases associated with immune checkpoint inhibitors in cancer immunotherapy. Mod Rheumatol. 2019; 29(5): 721-732.

総説(和文)

1. 岩尾憲明、大沼圭、**波多野良(3/7)**、大塚春奈、古宮栄利子、伊藤匠、森本幾夫. GVHDの発症と慢性炎症. BIO Clinica. 北隆館. 2019; 8(1): 128-133.

著書

1. Okamoto T, **Hatano R(2/9)**, Nakano K, Yamada T, Yamazaki H, Kaneko Y, Dang NH, Morimoto C, Ohnuma K. Regulation of proliferation of malignant mesothelioma cells by CD26-cyclophilin A molecular complex. In: Advances in Medicine and Biology. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, Editor: Leon V. Berhardt, 2019; Volume 156: Chapter 8: 165-185.

学会発表、シンポジウム等

0(なし)