

Title	2型自然リンパ球に対する新規制御機構の解明
Sub Title	Novel regulatory mechanism of group 2 innate lymphoid cells
Author	加畑, 宏樹(Kabata, Hiroki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>気管支喘息患者及び健常人の末梢血から2型自然リンパ球(ILC2)をフローサイトメトリーによって単離し、ライブイメージングを用いたシングルセル解析装置(Live cell imaging of secretion activity, LCI-S)を用いて解析した結果、喘息患者由来のILC2はIL-4受容体の発現が高く、サイトカイン刺激に対するIL-5及びIL-13の産生能が亢進していることを発見し、論文発表した(Baba R, Kabata H, et al. JACI Global, 2022)。また、ライブイメージングによりILC2を観察すると、サイトカイン刺激下において、IL-5やIL-13を産生する活性化ILC2と産生しない非活性化ILC2が混在していることが判明し、活性化ILC2と非活性化ILC2の違いを調べるために、それぞれを単離してRNA-seq解析を行ったところ、非活性化ILC2ではANXA1という遺伝子が高発現していることが明らかになった。そこで、レンチウイルスベクターを用いてヒトILC2に対して遺伝子導入を行う実験系を確立し、ANXA1の遺伝子導入やshRNAを用いたノックダウンを行うことにより、ANXA1がヒトILC2の活性化を抑制する遺伝子であることを明らかにした。さらに、ILC2の活性化には細胞内の亜鉛濃度の上昇が必要不可欠であることが判明し、ANXA1がメタロチオネインの発現を調節することでILC2内の亜鉛濃度を制御しているという新しい制御機構が明らかになり、本研究成果について現在論文投稿中である(Irie M, Kabata H, Cell Reports, in revision)。今後、これらの知見がヒトILC2における新しい活性化マーカーや新規治療ターゲットとなることが期待される。また、本年度は一連の研究によって明らかになったILC2の多様性に関する総説論文を複数発表した。</p> <p>Group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) were isolated from peripheral blood of patients with asthma and healthy volunteers by flow cytometry and analyzed using our novel single cell analysis system with live imaging (Live cell imaging of secretion activity, LCI-S). We found that ILC2s from patients had high expression of IL-4 receptor and enhanced production capacity of IL-5 and IL-13 under stimulation (Baba R, Kabata H, et al. JACI Global, 2022). In addition, observation of ILC2s by live imaging revealed a mixture of activated and non-activated ILC2s that produced or not produced IL-5 and IL-13 under cytokine stimulation, respectively. We separated activated ILC2s and non-activated ILC2s to performe RNA-seq analysis, which revealed that the gene expresion of ANXA1 was highly expressed in non-activated ILC2s. Then, we established an experimental protocol for gene transfer to human ILC2s using lentiviral vectors and demonstrated that ANXA1 was a gene that suppressed the activation of human ILC2s by means of gene transfer and knockdown of ANXA1 using shRNA. Furthermore, it was found that an increase in intracellular zinc concentration is essential for ILC2 activation, and a novel regulatory mechanism that ANXA1 controls zinc concentration in ILC2s by regulating metallothionein expression was revealed, and the results of this study are currently being submitted for publication (Irie M, Kabata H, et al. Cell Reports, in revision). In the future, these findings are expected to serve as new biomarkers and novel therapeutic targets in human ILC2s. We also published some review articles on the diversity of ILC2s revealed by our series of researches in this year.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220258

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	加畑 宏樹	氏名(英語)	Hiroki Kabata		
研究課題(日本語)						
2型自然リンパ球に対する新規制御機構の解明						
研究課題(英訳)						
Novel regulatory mechanism of group 2 innate lymphoid cells						
1. 研究成果実績の概要						
<p>気管支喘息患者及び健康人の末梢血から2型自然リンパ球(ILC2)をフローサイトメトリーによって単離し、ライブイメージングを用いたシングルセル解析装置(Live cell imaging of secretion activity, LCI-S)を用いて解析した結果、喘息患者由来のILC2はIL-4受容体の発現が高く、サイトカイン刺激に対するIL-5及びIL-13の産生能が亢進していることを発見し、論文発表した(Baba R, Kabata H, et al. JACI Global, 2022)。また、ライブイメージングによりILC2を観察すると、サイトカイン刺激下において、IL-5やIL-13を産生する活性化ILC2と産生しない非活性化ILC2が混在していることが判明し、活性化ILC2と非活性化ILC2の違いを調べるために、それぞれを単離してRNA-seq解析を行ったところ、非活性化ILC2ではANXA1という遺伝子が高発現していることが明らかになった。そこで、レンチウイルスベクターを用いてヒトILC2に対して遺伝子導入を行う実験系を確立し、ANXA1の遺伝子導入やshRNAを用いたノックダウンを行うことにより、ANXA1がヒトILC2の活性化を抑制する遺伝子であることを明らかにした。さらに、ILC2の活性化には細胞内の亜鉛濃度の上昇が必要不可欠であることが判明し、ANXA1がメタロチオネインの発現を調節することでILC2内の亜鉛濃度を制御しているという新しい制御機構が明らかになり、本研究成果について現在論文投稿中である(Irie M, Kabata H, Cell Reports, in revision)。今後、これらの知見がヒトILC2における新しい活性化マーカーや新規治療ターゲットとなることが期待される。また、本年度は一連の研究によって明らかになったILC2の多様性に関する総説論文を複数発表した。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>Group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) were isolated from peripheral blood of patients with asthma and healthy volunteers by flow cytometry and analyzed using our novel single cell analysis system with live imaging (Live cell imaging of secretion activity, LCI-S). We found that ILC2s from patients had high expression of IL-4 receptor and enhanced production capacity of IL-5 and IL-13 under stimulation (Baba R, Kabata H, et al. JACI Global, 2022). In addition, observation of ILC2s by live imaging revealed a mixture of activated and non-activated ILC2s that produced or not produced IL-5 and IL-13 under cytokine stimulation, respectively. We separated activated ILC2s and non-activated ILC2s to perform RNA-seq analysis, which revealed that the gene expression of ANXA1 was highly expressed in non-activated ILC2s. Then, we established an experimental protocol for gene transfer to human ILC2s using lentiviral vectors and demonstrated that ANXA1 was a gene that suppressed the activation of human ILC2s by means of gene transfer and knockdown of ANXA1 using shRNA. Furthermore, it was found that an increase in intracellular zinc concentration is essential for ILC2 activation, and a novel regulatory mechanism that ANXA1 controls zinc concentration in ILC2s by regulating metallothionein expression was revealed, and the results of this study are currently being submitted for publication (Irie M, Kabata H, et al. Cell Reports, in revision). In the future, these findings are expected to serve as new biomarkers and novel therapeutic targets in human ILC2s. We also published some review articles on the diversity of ILC2s revealed by our series of researches in this year.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Baba R, Kabata H, Shirasaki Y, Kamatani T, Yamagishi M, Irie M, Watanabe R, Matsusaka M, Masaki K, Miyata J, Moro K, Uemura S, Fukunaga K	Upregulation of IL-4 receptor signaling pathway in circulating ILC2s from asthma patients	JACI Global	1(4): 299-304, 2022			
Kurihara M, Kabata H, Irie M, Fukunaga K	Current summary of clinical studies on anti-TSLP antibody, Tezepelumab, in asthma	Allergology International	72(1): 24-30, 2023			
Asaoka M, Kabata H, Fukunaga K	Heterogeneity of ILC2s in the Lungs	Frontiers in Immunology	13: 918458, 2022			
Watanabe A, So M, Iwagami M, Fukunaga K, Takagi H, Kabata H, Kuno T	One-year follow-up CT findings in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis	Respirology	27(8): 605-616, 2022			
Irie M, Sasahara K, Artis D, Kabata H	Current overview of the role of neuropeptides in ILC2s and future directions	Allergology International	71(3): 294-300, 2022			