

Title	多角的シングルセルプロテオミクスを用いた難治性アレルギー疾患の病態解明
Sub Title	Pathogenic analysis of refractory allergic diseases using multiparametric single-cell proteomics
Author	宮田, 純(Miyata, Jun)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2025
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	シングルセル解析の基盤となるバルクでのヒト好酸球の解析を継続して実施した。ヒト好酸球のマルチオミクス解析により、インターフェロンによる制御機構 (Sasaki H, et al. Allergy 2024)、2型サイトカインのIL-4・ IL-13による炎症性変化 (Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024)、真菌抽出物・ NOD2リガンドによる調節機構 (Sasaki H, et al. Allergol Int 2025) を同定し、その遺伝子・ 蛋白発現の特徴を明らかとした。さらに、疾患毎の好酸球の性質変化を特定するために、患者の臨床検体から単離した好酸球の解析を以前の研究と同様に実施し、喘息COPDオーバーラップ、慢性鼻副鼻腔炎の患者由来の好酸球の性質変化を明らかとした。(Sasaki H, et al. Allergy 2024; Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024; Sunata K, et al. Front Immunol 2024) シングルセル解析については多重染色データの t -SNE法による解析を駆使して、CD69陽性の細胞分画を活性化好酸球として同定した。この細胞分画についてプロテオーム解析により特徴的な蛋白発現パターンを解明した。さらに疾患毎の細胞分画の割合の相違を明らかとし、臨床応用の可能性を示している。今後はこの細胞分画にも着目した上でシングルセルプロテオーム解析データの解析を進めていく。CyTOFを使用した解析は既に実施し、金属標識抗体の最良の組み合わせについての検討が実施している。 We continued to perform bulk analyses of human eosinophils, which serve as the foundation for single-cell analysis. Through multi-omics analysis of human eosinophils, we identified regulatory mechanisms mediated by interferons (Sasaki H, et al. Allergy 2024), inflammatory changes induced by type 2 cytokines IL-4 and IL-13 (Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024), and modulatory mechanisms triggered by fungal extracts and NOD2 ligands (Sasaki H, et al. Allergol Int 2025), and clarified the associated gene and protein expression profiles. In addition, to characterize disease-specific alterations in eosinophil properties, we analyzed eosinophils isolated from clinical specimens of patients, as in our previous studies, and revealed distinct features in eosinophils from patients with asthma-COPD overlap and chronic rhinosinusitis (Sasaki H, et al. Allergy 2024; Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024; Sunata K, et al. Front Immunol 2024). For single-cell analysis, we employed t-SNE analysis of multiplex-stained data to identify the CD69-positive cell population as activated eosinophils. Proteomic analysis of this cell population revealed characteristic protein expression patterns. Furthermore, we demonstrated disease-specific differences in the proportion of this cell population, indicating its potential for clinical application. Moving forward, we plan to further analyze single-cell proteomic data with a particular focus on this cell population. Analysis using CyTOF has already been conducted, and studies to determine the optimal combination of metal-tagged antibodies are currently underway.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2024000001-20240271

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.

2024年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師（有期・医学部）	補助額	500千円 （特B）
	氏名	宮田 純	氏名（英語）	Jun Miyata		
研究課題（日本語）						
多角的シングルセルプロテオミクスを用いた難治性アレルギー疾患の病態解明						
研究課題（英訳）						
Pathogenic Analysis of Refractory Allergic Diseases Using Multiparametric Single-Cell Proteomics						
1. 研究成果実績の概要						
シングルセル解析の基盤となるバルクでのヒト好酸球の解析を継続して実施した。ヒト好酸球のマルチオミクス解析により、インターフェロンによる制御機構（Sasaki H, et al. Allergy 2024）、2型サイトカインのIL-4・IL-13による炎症性変化（Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024）、真菌抽出物・NOD2リガンドによる調節機構（Sasaki H, et al. Allergol Int 2025）を同定し、その遺伝子・蛋白発現の特徴を明らかとした。さらに、疾患毎の好酸球の性質変化を特定するために、患者の臨床検体から単離した好酸球の解析を以前の研究と同様に実施し、喘息COPDオーバーラップ、慢性鼻副鼻腔炎の患者由来の好酸球の性質変化を明らかとした。（Sasaki H, et al. Allergy 2024; Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024; Sunata K, et al. Front Immunol 2024） シングルセル解析については多重染色データのt-SNE法による解析を駆使して、CD69陽性の細胞分画を活性化好酸球として同定した。この細胞分画についてプロテオーム解析により特徴的な蛋白発現パターンを解明した。さらに疾患毎の細胞分画の割合の相違を明らかとし、臨床応用の可能性を示している。今後はこの細胞分画にも着目した上でシングルセルプロテオーム解析データの解析を進めていく。CyTOFを使用した解析は既に実施し、金属標識抗体の最良の組み合わせについての検討が実施している。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
We continued to perform bulk analyses of human eosinophils, which serve as the foundation for single-cell analysis. Through multi-omics analysis of human eosinophils, we identified regulatory mechanisms mediated by interferons (Sasaki H, et al. Allergy 2024), inflammatory changes induced by type 2 cytokines IL-4 and IL-13 (Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024), and modulatory mechanisms triggered by fungal extracts and NOD2 ligands (Sasaki H, et al. Allergol Int 2025), and clarified the associated gene and protein expression profiles. In addition, to characterize disease-specific alterations in eosinophil properties, we analyzed eosinophils isolated from clinical specimens of patients, as in our previous studies, and revealed distinct features in eosinophils from patients with asthma-COPD overlap and chronic rhinosinusitis (Sasaki H, et al. Allergy 2024; Sunata K, et al. J Allergy Clin Immunol 2024; Sunata K, et al. Front Immunol 2024). For single-cell analysis, we employed t-SNE analysis of multiplex-stained data to identify the CD69-positive cell population as activated eosinophils. Proteomic analysis of this cell population revealed characteristic protein expression patterns. Furthermore, we demonstrated disease-specific differences in the proportion of this cell population, indicating its potential for clinical application. Moving forward, we plan to further analyze single-cell proteomic data with a particular focus on this cell population. Analysis using CyTOF has already been conducted, and studies to determine the optimal combination of metal-tagged antibodies are currently underway.						
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）			
Sasaki H, Miyata J*, Kawashima Y, Konno R, Ishikawa M, Hasegawa Y, Onozato R, Otsu Y, Matsuyama E, Sunata K, Masaki K, Kabata H, Kimizuka Y, Ueki S, Asano K, Kawana A, Arita M, Fukunaga K.	Distinct roles of types 1 and 2 interferons in human eosinophil regulation: A multi-omics analysis.	Allergy	2024;79(11):3141-3145.			

Sunata K, Miyata J*, Kawashima Y, Konno R, Ishikawa M, Hasegawa Y, Onozato R, Otsu Y, Matsuyama E, Sasaki H, Okuzumi S, Mochimaru T, Masaki K, Kabata H, Kawana A, Arita M, Fukunaga K.	Multiomics analysis identified IL-4-induced IL1RL1high eosinophils characterized by prominent cysteinyl leukotriene metabolism.	J Allergy Clin Immunol.	2024:S0091-6749(24)00741-3.
Sunata K, Miyata J*, Kawashima Y, Konno R, Ishikawa M, Hasegawa Y, Onozato R, Otsu Y, Matsuyama E, Sasaki H, Okuzumi S, Mochimaru T, Masaki K, Kabata H, Chubachi S, Arita M, Fukunaga K.	Inflammatory profile of eosinophils in asthma-COPD overlap and eosinophilic COPD: A multi-omics study.	Front Immunol.	2024:15:1445769.
Sasaki H, Miyata J*, Kawashima Y, Konno R, Ishikawa M, Hasegawa Y, Onozato R, Otsu Y, Matsuyama E, Sunata K, Masaki K, Kabata H, Kimizuka Y, Abe T, Ueki S, Asano K, Kawana A, Fukunaga K.	Aspergillus fumigatus extract modulates human eosinophils via NOD2 and oxidative stress.	Allergol Int.	2024:S1323-8930(24)00110-2.
Jun Miyata	Multi-omics analysis revealed the heterogeneity of eosinophils in allergic diseases.	World Allergy Congress 2024 (WAC24), Symposium 11 Sister Society Symposium: JSA Multifaceted approach to allergic inflammation, Estoril, Portugal.	2024.9.28