

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Monitoring Cellular Movement with Photoconvertible Fluorescent Protein and Single-Cell RNA Sequencing Reveals Cutaneous Group 2 Innate Lymphoid Cell Subtypes, Circulating ILC2 and Skin-Resident ILC2

(光変換蛍光タンパク質とシングルセル RNA-seq 解析を用いた細胞動態モニタリングによって明らかとなった皮膚 ILC2 のサブタイプ：循環 ILC2 と皮膚常在 ILC2)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 生体応答制御系

分子皮膚病態学 (指導教授 金澤伸雄)

氏 名 中谷(草壁)みのり

2 型自然リンパ球 (以下、ILC2) は、定常状態では主に末梢組織に存在すると考えられているが、これまでその遊走については完全に理解されていなかった。本研究では、ケラチン 14 プロモーターのもと IL-33 を表皮で恒常的に発現するトランスジェニックマウス(以下、IL33Tg マウス)が自然発症するアトピー性皮膚炎様の皮膚と所属リンパ節に浸潤する ILC2 について、遺伝子発現パターンを網羅的に解析し、ILC2 が皮膚から所属リンパ節に遊走する可能性について検討した。

まず、シングルセル RNA シークエンスを用いて、ILC2 の発現する遺伝子パターンを網羅的に解析した。IL33Tg マウスの皮膚炎において ILC2 は 2 つの異なる発現パターンが確認され、一方は、Th2 サイトカインを多く産生する遺伝子パターンを示したのに対し、もう一方は、これらの遺伝子発現は弱く、MHC クラス II 関連遺伝子の発現が強く見られ、所属リンパ節に存在する ILC2 と同様の遺伝子発現パターンを示した。次に、IL33Tg マウスに光変換可能な蛍光タンパク質を発現する遺伝子をノックインしたマウスを交配させたマウスを作成し、これらの細胞の動態を検討した。このマウスの皮膚において光変換によりマーキングされた ILC2 は、その一部が所属リンパ節で観察され、皮膚から遊走していることが確認された。さらにフローサイトメトリーにより、この ILC2 のサブタイプは MHC クラス II 関連タンパク質を発現することが示された。一方、皮膚においては、皮膚に留まり MHC クラス II 関連タンパク質を発現しない ILC2 は、発現する ILC2 に比べて、刺激によって 2 型サイトカインである IL-4, 5, 13 を有意に多く産生することが ELISA にて示された。このように、我々は、遺伝子発現パターンと表面マーカー、サイトカイン産生能の相違から、皮膚から所属リンパ節に遊走する Circulating ILC2 と皮膚に留まる Skin-resident ILC2 の 2 つのサブタイプを同定し、Skin-resident ILC2 が皮膚局所で大量の 2 型サイトカインを産生し、これまで知られているように自然免疫の誘導に関与するのに対し、Circulating ILC2 はリンパ節に遊走することによって獲得免疫応答の誘導に関与する可能性があることを示した。