

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和5年4月26日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人金沢大学
職 名 准教授
研究代表者 堀江 真史

下記のとおり令和4年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 21016)

1. 共同研究課題名	IL-5/IL-13 高産生性病原性 Th2 細胞の分化誘導機構の解明			
2. 共同研究目的	申請者は、生調研の奥西准教授との共同研究で、Th 細胞の中でも、CD44 ^{hi} CD62L ^{lo} CXCR3 ^{lo} の発現パターンで、かつ、IL-33 受容体 ST2 を発現するごくわずかの細胞集団が、抗原刺激時に IL-5/IL-13 を特異的に高産生することを見出している(J. Clin. Invest. 2020.)。本研究は、この IL-5/IL-13 高産生性細胞の分化誘導機構を明らかにすることを目的に行われる。将来的に、この機構の制御を介してアレルギー疾患の増悪や発症を予防する新奇治療法の開発に繋がることを期待する。			
3. 共同研究期間	令和 4年 4月 1日 ~ 令和 5年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 堀江 真史	国立大学法人金沢大学	准教授	堀江 真史	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	遺伝生化学分野	氏 名	奥西 勝秀

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

IL-4, IL-5, IL-13 などのアレルギー反応の病像を規定するエフェクターサイトカインは、CD44^{hi}CD62L^{lo} の表面抗原パターンを示す effector memory T 細胞 (T_{EM}) と呼ばれる細胞群が、抗原刺激等で活性化した際に産生する。IL-5/IL-13 高産生性 Th 細胞の分化誘導機構を解明する為、T_{EM} の中から、抗原刺激に伴って IL-5 を産生する (IL-5 産生性) Th 細胞群、および、抗原刺激時に IL-5 をほとんど産生しない (IL-5 非産生) Th 細胞群を分離し、その後、RNA seq 解析や ATACseq 解析など、網羅的遺伝子解析を行う。各細胞群間で、発現 mRNA やオープンクロマチン領域の差異を検討し、IL-5 産生性 Th 細胞の細胞特性やその分化誘導機構の解明に近づくことを、期待する。

7. 共同研究の成果

本研究における群馬大学生体調節研究所 共同研究担当教員である奥西先生に、T_{EM} の中から、IL-5 産生性 Th 細胞、IL-5 非産生 Th 細胞をそれぞれ単離してもらい、90%FBS+10%DMSO 液で冷凍保存した後、冷凍便で申請者に送ってもらった。その後、申請者の方でサンプルを融解し、融解後の cell viability がいずれも 50%前後と良好なことを確認した後、ATACseq を行った。そして、IL-5 非産生細胞と比べて、IL-5 産生細胞で、IL-5 及び IL-13 の転写開始点上流がよりオープンクロマチンになっているという、IL-5 産生細胞で IL-5/IL-13 産生が亢進していることと合致する所見を得た。一方、IL-5 産生性 Th 細胞群と IL-5 非産生 Th 細胞群との間で IL-4 産生に大きな差を認めないことを、*J. Clin. Invest. 2020* 論文で報告し、今回も奥西先生が再確認しているが、実際、IL-4 遺伝子周辺のオープンクロマチンの程度は、両細胞群間で大きな差を認めなかった。以上から、今回の ATACseq 解析はワークしていると判断できた。そして、シーケンス結果の解析を進め、IL-5 産生性 Th 細胞でのみ認められるピークを 1 万個弱検出し、更に motif 解析を行って、IL-5 産生性 Th 細胞で特異的に活性化している転写経路の抽出に成功した。今後、Th 細胞における IL-5 の産生誘導でこれらの転写経路が果たす役割を、当該経路の活性化や阻害の系を用いて、明らかにしていく。

また、バルクでの RNAseq を行うべく、ATACseq 解析と同様、研究所の奥西先生に IL-5 産生性 Th 細胞、IL-5 非産生性 Th 細胞、両細胞群を単離してもらい、外注先に RNA を提出してもらったところ、IL-5 産生性 Th 細胞の RNA 量が少ないことが判明し、現在解析を pending の状態である。RNA 量を増やすべく、現在、奥西先生が細胞回収を継続している。十分量の RNA が得られたと判断したところで、外注先にサンプルの追加提出を行い、バルク RNAseq 解析を進めていく予定である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文
特に無し

② この共同研究に基づくとの記載のある論文
特に無し

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)
特に無し

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)
・担当教員から ATACseq 用サンプルを受け取った。
・その他は、コロナの影響で、主にメールで情報交換を行った。