

迅速な殺細胞活性を持つ自然リンパ球を同定

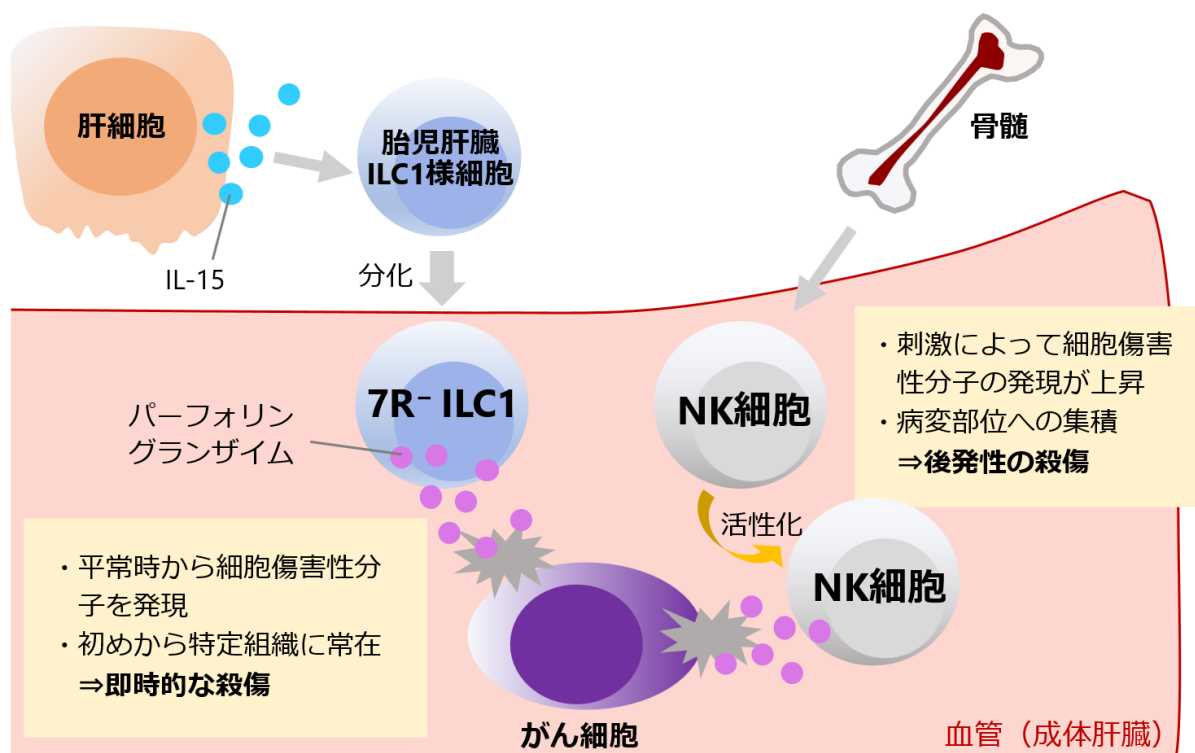
—肝細胞ニッチが育む免疫監視担当細胞—

概要

京都大学医生物学研究所 生田宏一 教授、旭拓真 博士課程学生（現：第一三共株式会社）らの研究グループは、標的細胞を迅速に殺傷する自然リンパ球^{*1}を新たに同定し、その生体内での分化機構を解明しました。

1型自然リンパ球（ILC1）は肝臓や腸管といった生体防御の最前線に分布し、サイトカイン産生によって感染制御やがん免疫に寄与するリンパ球様細胞です。従来、がん細胞や感染細胞を直接的に殺すのはILC1ではなく、近縁のナチュラルキラー（NK）細胞だと考えられてきました。本研究では、細胞運命の解析やイメージング解析を用い、胎児肝臓に由来するILC1（IL-7受容体陰性ILC1, 7R⁻ ILC1）がNK細胞とは異なるタイプの殺細胞活性を持つことを明らかにしました。この殺細胞活性は、7R⁻ ILC1が平常時から高発現する細胞傷害性分子^{*2}を介して迅速に発揮されました。さらに、肝細胞の微小環境（ニッチ）^{*3}が7R⁻ ILC1の分化に必要であることを見出しました。本成果は、自然リンパ球によるがん治療の樹立や、既存の免疫療法の改良、そしてがんの予防といった医療上の新しい展開につながることを期待されます。

本研究成果は、2023年6月22日に国際学術誌「eLife」のオンライン版に掲載されました。



図：胎児肝臓由来の1型自然リンパ球（7R⁻ ILC1）によるがん細胞の即時的な殺傷

1. 背景

私たちの身体は、外界からの感染や自己由来のがん細胞の脅威に日々さらされています。1型自然リンパ球（ILC1）は肝臓や腸管、子宮などの生体防御の最前線に常在し、インターフェロン γ （IFN- γ ）などのサイトカインを産生することで、感染の初期制御や臓器機能の維持に貢献しています。一方、がん細胞を直接的に殺す働きは、ILC1の近縁であり全身を循環するナチュラルキラー（NK）細胞が担っていると考えられていました。興味深いことに、近年の研究から ILC1 の性質は臓器間、病態間で大きく異なることが分かっています。そこで、本研究グループはこの ILC1 の不均一性（heterogeneity）に着目し、がん細胞の殺傷において ILC1 が果たす役割を解析しました。

2. 研究手法・成果

まず ILC1 の不均一性を解き明かすため、マウスの複数の組織における ILC1 のマーカー分子の発現解析やトランスクリプトーム解析^{※4}を行いました。その結果、成体肝臓の ILC1 の約半数が、これまで ILC1 のマーカー分子だとされてきたインターロイキン7受容体（IL-7R）を発現していないことが判明しました。さらに、胎児期の造血器官である胎児肝臓内の ILC1 様細胞は IL-7R を全く発現しませんでした。一方、成体の造血器官である骨髄や、脾臓、小腸といった多数の臓器では、ILC1 は従来の知見通り IL-7R を発現していました。胎児肝臓 ILC1 様細胞をマウスに移植したところ、成体肝臓の IL-7R 陰性 ILC1（7R⁻ ILC1）へと分化しました。また、胎児肝臓 ILC1 様細胞の運命解析（フェイトマッピング）^{※5}を行い、胎児肝臓 ILC1 様細胞が実際に成体肝臓の 7R⁻ ILC1 のみに分化することを示しました。ここから、成体肝臓に存在する 7R⁻ ILC1 は固有かつ安定した細胞系譜であり、胎児肝臓から分化することが明らかとなりました。

次に、7R⁻ ILC1 の生体組織内での分化機序を詳しく調べました。蛍光イメージングから、胎児肝臓 ILC1 様細胞は肝細胞と直接的に相互作用していることを見出しました。また、公知の一細胞トランスクリプトームのデータから、肝細胞が ILC1 の分化を促すインターロイキン15（IL-15）^{※6}と、その産生に必要な IL-15 受容体 α 鎖（IL-15R α ）を発現していることが分かりました。そこで、肝細胞特異的に IL-15 遺伝子を欠損するマウスを作製し ILC1 分化に及ぼす影響を調べたところ、胎児肝臓 ILC1 様細胞と 7R⁻ ILC1 が減少しましたが、その他の ILC1 への影響はみられませんでした。以上の結果から、肝細胞が 7R⁻ ILC1 の分化に必要な微小環境（ニッチ）を提供していることが明らかとなりました。

最後に、7R⁻ ILC1 の殺細胞活性の解析を行いました。NK 細胞はサイトカインを始めとする種々の刺激に応じて細胞傷害性分子の発現を上昇させ、がん細胞を殺傷します。この殺細胞活性の上昇には、mTOR^{※7} 依存的な細胞代謝の活性化が必要であることが分かっています。一方、興味深いことに、7R⁻ ILC1 は細胞傷害性分子であるグランザイムを平常時から高発現しており、非刺激下でもグランザイムを用いてがん細胞を効率的に殺傷しました。また、7R⁻ ILC1 では平常時から mTOR の活性が強く認められ、mTOR 阻害剤であるラパマイシンの投与によって、そのグランザイムの発現は低下しました。ここから、7R⁻ ILC1 の殺細胞活性は従来知られていた NK 細胞のものとは異なり、外部刺激による活性化を必要とせず即時的に発揮されることが明らかとなりました。

以上の結果から、胎児肝臓を起源に持ち、肝細胞ニッチ依存的に分化する ILC1 が、がん細胞を迅速に殺傷する機能を持っていることが明らかとなりました。

3. 波及効果、今後の予定

従来から研究されてきた NK 細胞と比べ、発見から日の浅い ILC1 のがん免疫への寄与はこれまで不明瞭で

した。本研究から、胎児肝臓由来の ILC1 が、NK 細胞とは異なる迅速な殺細胞活性を持ち、平常時においてもがん細胞を殺傷することが明らかとなりました。全身を循環している NK 細胞は、炎症性刺激に応じて活性化し、がん組織などの病巣に集積して働くと考えられています。一方で、特定の組織に初めから常在している ILC1 は、むしろ日々発生するがん細胞の即時的な排除や、転移してくるがん細胞の除去といった、がんが定着するまでの「監視」を担っていることが考えられます。こうしたユニークな殺細胞活性は、将来的ながん治療標的となることが期待されるだけでなく、がんの予防といった新しい医療健康上の展開をもたらす可能性があります。また、ILC1 の働きを制御するための候補標的として、肝細胞が新たに示唆されました。今後は、マウスで得られたこれらの知見を活かしてヒト ILC1 の抗腫瘍効果を解明し、創薬標的としての妥当性を探っていくことが重要な課題となります。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業（20H03501「自然免疫系リンパ球を支える IL-15 産生性微小環境の同定と病態における役割」、20K21525「グルココルチコイドによる自己免疫性疾患の誘導機構」、19K16687「2B4 陽性新規 iNKT 細胞の分化・維持機構と機能の解析」、21K07067「2 型自然リンパ球新規抑制因子の同定と抗アレルギー・抗線維化作用の探索」、武田科学振興財団、清水免疫学・神経科学振興財団、京都大学ウイルス・再生医科学研究所（現：医生物学研究所）ウイルス感染症・生命科学先端融合的共同研究拠点の支援を受け、実施しました。

<用語解説>

※1 **自然リンパ球**：2010 年以降同定された新たなリンパ球ファミリー。古典的なリンパ球である T 細胞や B 細胞と同様にリンパ球系共通前駆細胞（CLP）から分化するものの、それらとは異なり抗原特異的な受容体を発現しない。自然リンパ球による応答は、サイトカインや内因性/外因性リガンド、栄養や代謝物といった環境因子によって素早く惹起される。転写因子やサイトカインの発現性の違いから、自然リンパ球は NK 細胞、ILC1、ILC2、ILC3、リンパ組織誘導細胞（LTi）という 5 つのサブセットに分類されている。

※2 **細胞傷害性分子**：リンパ球による標的細胞の殺傷に用いられる分泌因子、もしくは細胞死を誘導するリガンド（デスリガンド）の総称。分泌顆粒としてはパーフォリンやグランザイムが、デスリガンドとしては Fas リガンドや腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘導リガンド（TRAIL）が知られている。

※3 **ニッチ**：対象細胞と相互作用し、その分化、生存、増殖、機能を支える組織中の限局した微小環境のことを指す。たとえば、骨髄の特殊な微小環境は造血幹細胞の分化と維持に重要な役割を果たしている。

※4 **トランスクリプトーム解析**：細胞内に存在する全遺伝子の発現量を網羅的に取得する解析手法。組織や細胞集団単位で行うバルクトランスクリプトームの他に、近年ポピュラーになった一細胞トランスクリプトームなどがある。

※5 **細胞の運命解析（フェイトマッピング）**：ある細胞種、組織が一定時間の経過後にどのような細胞、組織へと分化したかを解明するための手法。たとえば、特定の条件を満たす細胞集団のみが蛍光タンパクを永続的に発現するようになるシステム（Cre レポーターマウスなど）を用いれば、その集団の細胞運命を追跡することができる。

※6 **インターロイキン 15（IL-15）**：CD8 T 細胞、NKT 細胞、NK 細胞、ILC1 などのリンパ球の分化、生存、増殖、機能に重要な役割を果たすサイトカイン。上皮細胞、間葉系細胞、内皮細胞、ミエロイド系細胞などから、主に IL-15R α 鎖とヘテロ二量体を形成した状態で産生される（トランスプレゼンテーション）。IL-15/IL-

15R α 複合体は平常時から構成的に産生されており、各組織でリンパ球の恒常性と働きを維持している。

※7 mTOR：細胞の栄養状態や増殖因子の下流シグナルを統合し、細胞成長、増殖、活性化を調節する主要なリン酸化酵素。mTOR complex 1 (mTORC1)、mTORC2 という二つのタンパク複合体を形成して作用する。免疫抑制剤として知られるラパマイシンは mTORC1 の活性阻害を作用機序としている。

<研究者のコメント>

がん免疫療法は患者さんが元々持っている免疫系に働きかけるため、汎用性の高い治療効果を生む可能性を秘めています。本研究から提示されたような殺細胞活性を患者さんの免疫系に付与したり、細胞治療に活かすことができれば、多くのがんに対してアプローチが可能となるのではないかと期待しています。今後は本成果の創薬への橋渡しに尽力していきたいと考えています（旭拓真）。

<論文タイトルと著者>

タイトル： Liver type 1 innate lymphoid cells lacking IL-7 receptor are a native killer cell subset fostered by parenchymal niches（肝臓の IL-7 受容体陰性 ILC1 は実質細胞ニッチによって育まれるキラー細胞サブセットである）

著者： Takuma Asahi, Shinya Abe, Guangwei Cui, Akihiro Shimba, Tsukasa Nabekura, Hitoshi Miyachi, Satsuki Kitano, Keizo Ohira, Johannes M Dijkstra, Masaki Miyazaki, Akira Shibuya, Hiroshi Ohno, and Koichi Ikuta

掲載誌： *eLife* DOI：10.7554/eLife.84209