

自然リンパ球の分化・機能制御機構

海老原 敬

秋田大学大学院医学系研究科 微生物学講座

(令和元年 12 月 26 日掲載決定)

Transcriptional control of innate lymphoid cell differentiation and function

Takashi Ebihara

Department of Medical Biology, Graduate School of Medicine, Akita University

Key words : innate lymphoid cell, transcription factor, Runx, exhausted-like ILC2

はじめに

病原体感染症に対する免疫応答は、大きく初期・自然免疫系と獲得免疫系に分けられる。初期・自然免疫系は、細菌細胞壁やウイルス核酸といった病原体のパターンを認識することにより活性化する一連の免疫応答であり、I型・III型インターフェロンの誘導や炎症性サイトカインの分泌、好中球やマクロファージといった貪食細胞の活性化、補体系の活性化、細胞障害活性を持つナチュラルキラー細胞（Natural killer細胞：NK細胞）の活性化を含む概念である。また、樹状細胞やマクロファージといった抗原提示細胞は、病原体パターン認識と共に病原体ペプチドをナイーブヘルパーT細胞に抗原提示し、 T_H1 、 T_H2 、 T_H17/T_H22 等のヘルパーT細胞を誘導する。これら分化したヘルパーT細胞は、獲得免疫系の方向性を決定する。例えば、ウイルス等の細胞内病原体に感染した場合は、 $IFN\gamma$ を産生する T_H1 優位のヘルパーT細胞の活性化が起こり、キラーT細胞の活性化が誘導される（図1左）。活性化キラーT細胞は、ウイルス感染細胞にアポトーシスを誘導する。この反応系はI型の免疫応答と呼ばれる。寄生虫感染症やアレルゲンの暴露に対し

ては、IL-4/IL-5/IL-13を産生する T_H2 優位のヘルパーT細胞が活性化し、形質細胞からのIgE産生や好酸球の遊走・活性化を誘導する（図1中央）。遊走好酸球は、IgEによりオプソニン化された寄生虫を攻撃する。この経路はII型の免疫応答と呼ばれる。一部の病原性大腸菌のような細胞外病原体感染症に対しては、IL-17やIL-22を産生する T_H17/T_H22 の活性化を主体とする、III型の免疫応答が誘導される（図1右）。IL-17は細菌を貪食する好中球を遊走し、IL-22は上皮細胞に作用し、粘液の産生や細胞の増殖を介して上皮の修復を誘導する。このように、感染した病原体の種類によって異なるヘルパーT細胞が誘導され、病原体の種類に則した獲得免疫系が活性化し、病原体は駆除される。

2010年頃より、初期・自然免疫系において、ヘルパーT細胞のようなヘルパー機能を持つリンパ球の一群が同定され、自然リンパ球（Innate lymphoid cell：ILC）と名付けられた¹⁻⁵。ILCは、粘膜組織に常在し、初期のヘルパーサイトカイン産生を担当することにより、免疫の方向性を決定づける（図1）。ILCはヘルパーT細胞に非常によく似たリンパ球であるが、T細胞レセプターのようなリコンビネーションを必要とする抗原特異的レセプターは発現していない。よって、樹状細胞や障害を受けた間質・上皮細胞から産生・放出されるサイトカインによって活性化する。ILCは、その産生サイトカインによって大きく3つに分類される。IFN γ を産生するILC1、IL-4/IL-5/IL-13を産生するILC2、IL-17/IL-22を産生するILC3である。ILC3は、さらに、NK細胞のレセプターNcr1（NKp46）を発現

Correspondence : Takashi Ebihara
Department of Medical Biology, Graduate School of Medicine, Akita University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010- 8543, Japan
Tel : +81-18-884-6080
E-mail : tebihara@med.akita-u.ac.jp
*令和元年 12 月 2 日 秋田医学会教授主任特別公演

(2)

自然リンパ球の分化・機能制御機構

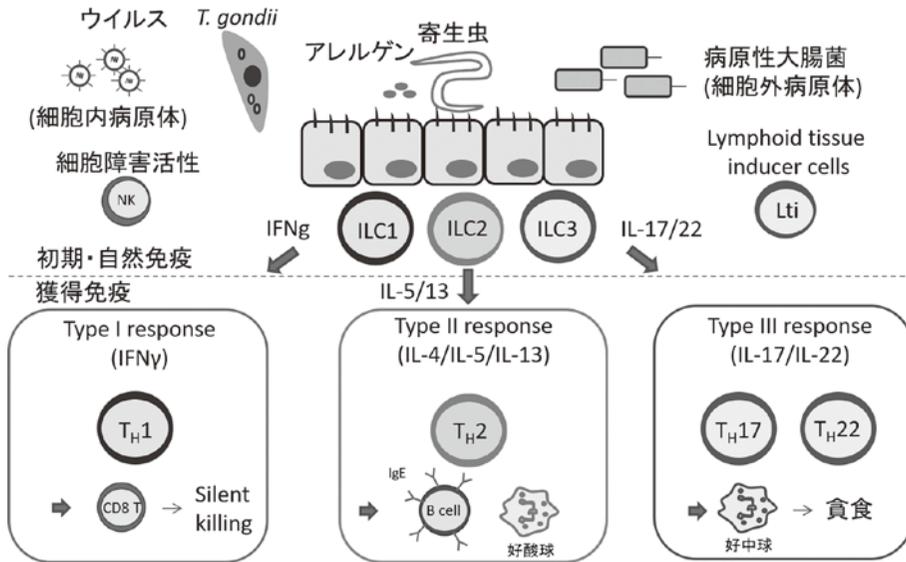


図1. 自然リンパ球, ヘルパー T 細胞によるヘルパー機能と抗感染症防御

する ILC3 と発現しない Lymphoid tissue inducer-like (Lti-like) 細胞に分類される。Lti 細胞は、胎児期の 2 次リンパ組織形成に必須な血球であり、ILC3 の一種と考えられている。近年、これらヘルパー機能をもつ ILC をヘルパー ILC と呼び、細胞障害活性が強い NK 細胞は、キラー ILC と呼ばれるようになった¹⁾。新しく発見されたヘルパー ILC の生理的意義やその分化・機能制御機構が世界的に着目されている中、我々は、転写因子 Runx (Runt-related transcription factor) を介したヘルパー ILC の機能・分化制御機構を明らかにした⁶⁻⁹⁾。本稿では我々が得た最新の知見を総説する。

転写因子 Runx

Runx は Runxt ドメインという DNA 結合領域を有する転写因子のファミリーであり、Runx1, Runx2, Runx3 が含まれる^{7,10)}。それぞれの Runx は、Cbfβ とヘテロダイマーを形成することにより初めて DNA に結合することができるため、Cbfβ 欠損により全ての Runx の機能欠損が誘導される。Runx は、様々な細胞の分化や機能を制御する。遺伝子欠損マウスの解析から、Runx1 は血液幹細胞の分化に必須であること、Runx2 は骨芽細胞の分化に必須であることが分かっている¹⁰⁾。Runx3 欠損マウスは胎生致死ではないが、神

経系の発達以上により短命である¹⁰⁾。血球系の細胞では、Runx1 や Runx3 の発現が高く、細胞特異的遺伝子欠損マウスにより、細胞特異的な Runx の機能が明らかになっている。中でも T 細胞の分化決定において、Runx は非常に重要な機能をもつ^{7,10)}。Runx3 は TH1 における IFNγ 産生や TH1 lineage の維持に必須である¹¹⁾。Runx3 は、TH2 のマスターレギュレーターである GATA-3 に結合し、競合的に機能を抑制する一方¹²⁾、IL-4 遺伝子のサイレンサー領域に結合することにより、TH2 サイトカインである IL-4 を負に制御する¹³⁾。また、Runx1 は、TH17 や抑制性 T 細胞 (Treg) の分化に必須である^{14,15)}。そこで、私達は、ヘルパー T 細胞と ILC の類似性を考慮に入れ、ILC における Runx の機能を明らかにすることを考えた。

ILC 分化経路と Runx の発現

Common lymphoid progenitor (CLP) は、T 細胞、B 細胞、NK 細胞、全ての ILC に分化する前駆細胞である (図 2)^{1,2)}。転写因子 TCF-1 陽性の Early ILC progenitor (EILP) は、T 細胞や B 細胞への分化能をなくすが、NK 細胞と全ての ILC には分化しうる¹⁶⁾。ヘルパー ILC 特異的な前駆細胞は、転写因子 Id2 陽性の Common helper-like ILC progenitors (CHILP) と転写因子 PLZF 陽性の Committed ILC progenitors (ILCP)

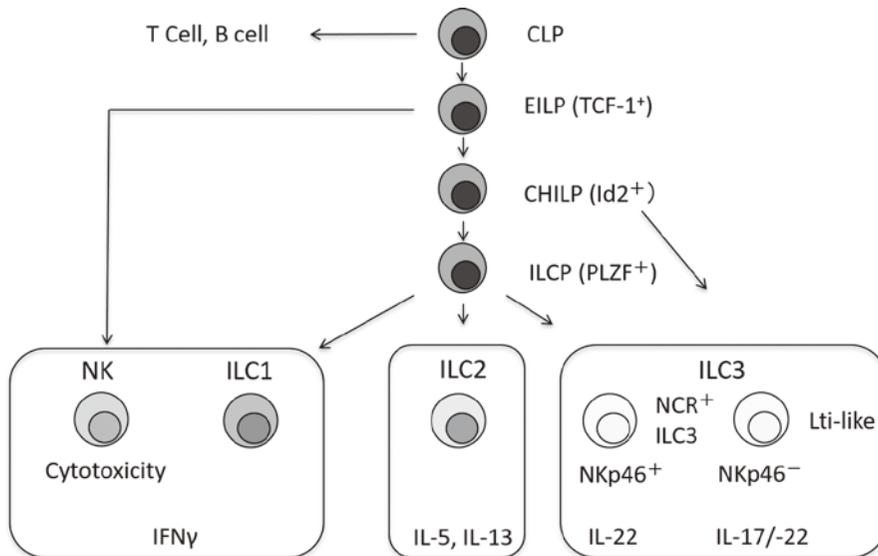


図2. 自然リンパ球の分化経路

CLP: Common lymphoid progenitor, EILP: Early ILC progenitor, CHILP: Common helper-like ILC progenitors, ILCP: Committed ILC progenitors, NK: Natural killer cell, ILC: Innate lymphoid cells, Lti: Lymphoid tissue-inducer, NCR: NK cell receptor

である^{17,18)}。ILCPは、CHILPのサブポピュレーションであり、CHILPの50%程度を占める。CHILPからは、全てのヘルパーILCに分化するが、ILCPからは、ILC3の一部、Lti-like細胞には分化しない。

ILCは各組織に分布しているが、消化管では全てのILCが同程度分布していることが分かっていたため、消化管ILCにおけるRunxの機能を調べることにした⁶⁾。まず、ヘルパーILCにおけるRunxのmRNA発現を調べたところ、どの細胞においてもRunx3の発現が最も高いことが分かった。次に、レポーターマウスを用いてRunx3の蛋白レベル発現を調べたところ、ILC1ではRunx3の発現が高く、ILC3では中程度、ILC2は低いということが分かった(図3)。さらに、ILCにおけるRunx1の発現をレポーターマウスで調べた結果、ILC1とILC3ではRunx1の発現が低く、ILC2では中程度Runx1を発現していた⁹⁾。おそらく、ILC2ではRunx3の発現が低いので、それを補填するようにRunx1の発現が高くなることが推察された。一方、骨髄のILC前駆細胞では、CLPにおけるRunx3の発現は低いが、ILC分化に伴いRunx1とRunx3の発現が上昇し、ILCPで非常に高くなった(図3)。骨髄のILC2前駆細胞では、Runx3の発現が低くなっていることから、ILC2の経路に入るためには、

Runx3発現は抑制される必要があり、ILC1の分化にはRunx3の発現が高く、ILC3の分化にはRunx3の発現が中程度に維持されることが分かった。以上より、Runx3の発現レベルで、ILC分化経路が決定していくことが示唆された(図3)。

ILC1とILC3におけるRunxの機能

次に、ILCにおけるRunx3の機能を調べるために、いくつかの条件付きKOマウスを作製した⁶⁾。まず、ILC1とNKp46⁺ILC3におけるRunx3の機能を調べるために、Runx3をNKp46発現細胞(NK細胞、ILC1、NKp46⁺ILC3)において遺伝子欠損を誘導したところ、NK細胞、ILC1、NKp46⁺ILC3の全てで細胞数が減少した。さらに、全てのRunxの結合パートナーであるCbfbをNKp46発現細胞で欠損誘導を行うと、NK細胞、ILC1、NKp46⁺ILC3はほぼ消失した。Cbfb欠損ILC1では、抗アポトーシス蛋白であるBcl2の発現が減少するため、Cbfb欠損によりILC1にアポトーシスが起きていることが示唆された(図3)。しかし、Cbfb欠損NKp46⁺ILC3には、アポトーシスが起これおらず、別の機序の存在が示唆された。次に、ILC2と全てのILC3におけるRunx3の機能を調べるために、全

(4)

自然リンパ球の分化・機能制御機構

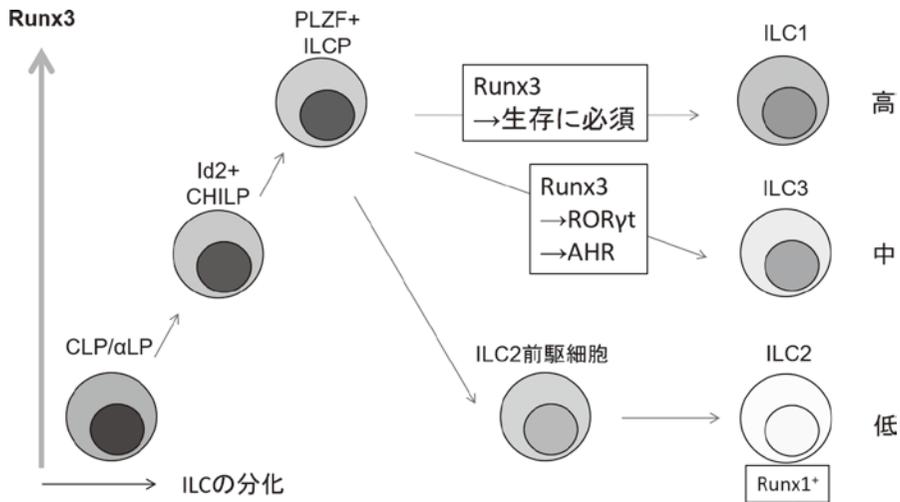


図3. Runx3による ILC lineage 決定機構

ての血球で Runx3 の遺伝子欠損を誘導した。結果、ILC2 の分化には大きな変化はなかったが、ILC3 は、そのマスターレギュレーターである ROR γ t を発現できずにほとんど消失した (図3)。ROR γ t 遺伝子座のイントロン領域に Runx の結合領域があり、その除去により ILC3 による ROR γ t 発現が消失するため、Runx3 は ILC3 の ROR γ t 発現誘導に必須な転写因子であることが分かった¹⁹⁾。以上より、Runx3 は、ILC1 と ILC3 の分化に必須だが、ILC2 の分化には必要ないことが示唆された (図3)。

ILC1 と ILC3 の生理的意義

ILC において、Runx3/Cbfb がいかなる生理的相関性をもつか調べるために、Runx3 や Cbfb の機能不全を NKp46 発現細胞で誘導したマウス (Runx3^{fl/fl} NCR1-Cre マウスや Cbfb^{fl/fl} Ncr1-Cre マウス) を用いて、いくつかの細菌感染症を試みた^{6,20)}。まず、Runx3^{fl/fl} NCR1-Cre マウスに、マウスの病原性大腸菌 (*C. rodentium*) を感染させた (図4左)⁶⁾。結果、NK 細胞、ILC1、ILC3 が減少することにより、病初期の感染症が増悪することが明らかになった。*C. rodentium* 感染症では、IFN γ や IL-22 が宿主防御に重要なことが分かっていた。IFN γ は消化管上皮細胞に作用し、抗菌ペプチドの産生を誘導する。IL-22 は、消化管上皮細胞からの粘膜の産生や修復に重要である。*C. rodentium* に感染した Runx3^{fl/fl} Ncr1-Cre マウスでは、ILC1 からの IFN γ

産生の低下や ILC3 からの IL-22 産生の低下を認めた。以上より、ILC の Runx3 は、病原性大腸菌感染症に対する初期免疫応答に重要な機能を持つことが示唆された。

次に、結核菌感染症モデルを使用した (図4右)²⁰⁾。野生型マウスに結核菌を感染させると、感染初期に肺 ILC3 が増加した。そこで、Cbfb^{fl/fl} Ncr1-Cre マウスに結核菌を感染させたところ、肺細菌数の上昇を認めた。Cbfb^{fl/fl} Ncr1-Cre マウスでは、NK 細胞、ILC1、ILC3 が減少している。結核菌感染症における NK 細胞や ILC1 の機能を調べるために、NK1.1 抗体により NK 細胞と ILC1 を除去し、結核菌を感染させたが、肺細菌数に大きな変化を認めなかった。また、ILC3 の欠損により、誘導性気管支関連リンパ組織 (iBALT) の形成が障害を受けることから、ILC3 は抗結核菌免疫応答に重要な機能を持つことが明らかになった。

ILC2 における Runx の機能

次に、ILC2 における Runx の機能を明らかにすることにした⁹⁾。ILC2 は、アレルギー性疾患と強い相関関係を認める細胞であり、アレルギー性疾患を罹患しやすい組織 (肺・気管支、皮膚、眼球結膜、消化管等) に多く分布している。特に定常状態の肺においては、好酸球遊走因子である IL-5 の主たる産生細胞は ILC2 である。アレルゲンを吸引すると、多くのアレルゲンは蛋白分解酵素活性を持つため、気道上皮細胞や間質

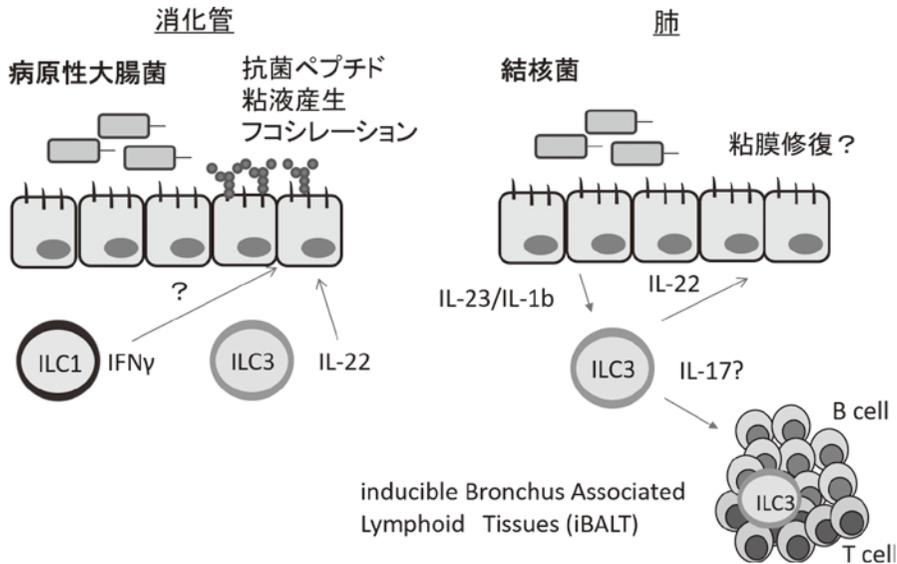


図4. ILC1, ILC3による抗細菌防御機構

細胞が障害を受け、アラミンと呼ばれる IL-25, IL-33, TSLP 等のサイトカインが障害細胞から放出される。放出されたアラミンに対するレセプターを ILC2 は持っているため、ILC2 はアラミンによって活性化し、IL-5 や IL-13 といった T_H2 サイトカインをさらに産生する。産生上昇した IL-5 によって、より多くの好酸球遊走が誘導される。IL-13 は、上皮細胞からの粘液の産生を促すだけでなく、樹状細胞の遊走や M2 マクロファージの分化を促すことにより、 T_H2 を活性化させる。活性化した ILC2 は、一度増殖するが、回復期には元の数に戻り、同一組織に長く常在する。一度活性化を経験した ILC2 は、別のアレルゲンの暴露に際しても、抗原非特異的に、より多くの T_H2 サイトカインを産生するようになる。この現象を ILC2 のメモリー様現象と呼ぶ²¹⁾。しかし、ILC2 がなぜ、繰り返し刺激を受ける粘膜組織に常在し、活性を維持することができるのか、分かっていなかった。

前述の通り、ILC2 は Runx3 だけでなく Runx1 も発現しているため、Runx3 だけの遺伝子欠損では、分化や機能に大きな変化を認めなかった。この原因として、Runx1 が Runx3 の機能欠損を補填してしまうことが推察された。そこで、ILC2 における全ての Runx の機能を調べるために、PLZF 陽性の ILC 前駆細胞 (ILCP) にて (図2)、Cbfβ を欠損させることにより、その下流の細胞 (ILC1, ILC2, NCR⁺ILC3) に Cbfβ を

欠損させることができるマウス (*Cbfb^{fl/fl}* PLZF-Cre マウス) を作製した⁹⁾。定常状態の肺やアレルギー炎症をおこした肺においては ILC1 も NCR⁺ILC3 もほとんど検出されないため、肺の ILC2 を研究の対象とした。

まず、Cbfβ 欠損 ILC2 が正常に分化するかどうか調べるために、*Cbfb^{fl/fl}* PLZF-Cre マウスの骨髄と野生型の骨髄を用いて競合的骨髄キメラを作製したところ、肺や消化管の ILC2 は Cbfβ が欠損していても正常に分化することが明らかになった⁹⁾。次に、*Cbfb^{fl/fl}* PLZF-Cre ILC2 の表現型を調べた結果、活性化マーカーと言われる KLRG1 の発現上昇、Thy1 の発現低下、IL-5 の産生上昇を認めた。これらは、Cbfβ 欠損 ILC2 が活性化型になっていることを示す。GATA-3 は、 T_H2 のマスターレギュレーターであると同時に、ILC2 のマスターレギュレーターでもある。 T_H2 において、Runx3/Cbfb^{fl/fl} は GATA-3 に競合的に結合し、その機能を拮抗阻害する。ILC2 においても、同様の GATA-3 に対する拮抗阻害が起きているかどうか調べるために、Cbfβ 欠損 ILC2 のトランスクリプトーム解析を行い、GATA-3 によって制御される遺伝子群の発現を調べた。結果、Cbfβ 欠損によって、IL-5 等の GATA-3 によって正に制御される遺伝子発現の上昇と Thy1 等の GATA-3 によって負に制御される遺伝子群の発現低下を認めた。以上より、定常状態の肺 ILC2 において、Runx 蛋白は GATA-3 を拮抗阻害するため、Cbfβ 欠損

(6)

自然リンパ球の分化・機能制御機構

により GATA-3 の機能が充進することが示唆された (図5)⁹⁾。

次に、アレルギー炎症時の ILC2 における Runx の機能を解析するために、肺 ILC2 を *Cbfb^{fl} PLZF-Cre* マウスより分離し、IL2 と IL-33 で試験管培養を行った⁹⁾。IL-33 は、アレルギー炎症を誘導するサイトカインであり、ILC2 を強く活性化する。定常状態の ILC2 は *Cbfb* 欠損によって活性化型になっていたが、*Cbfb* 欠損 ILC2 は、IL-2/IL-33 の刺激に対して、IL-5/IL-13 の産生低下と増殖能の低下を示した。細胞の維持を目的に IL-2/IL-7 で *Cbfb* 欠損 ILC2 を培養すると、上記のような低反応性を認めなかったことから、*Cbfb* は ILC2 が IL-33 刺激に対して、適切に応答するために必須な転写因子であることが示唆された⁹⁾。

Cbfb 欠損 ILC2 の IL-33 に対する低反応性の原因を調べるために、IL-2/IL-33 の刺激を試験管内で行った *Cbfb* 欠損 ILC2 を用いて、RNA シークエンスを行った⁹⁾。結果、*Cbfb* 欠損によって、ILC2 の機能を司るサイトカイン (IL-5, IL-13, IL-9, amphiregulin, GM-CSF 等) の発現減少、ILC2 の機能性維持に必要と言われるレセプター群 (IL9R, ICOS, IL7R, NMUR, *Vipr2*) の発現減少、T 細胞疲弊マーカー (*Tigit*, IL-10, *CTLA4*, *PD-1*, *KLRG1*, *Blimp1*) の発現上昇を認めた。そこで、私達は、T 細胞疲弊マーカーの発現上昇に伴う ILC2 の機能低下現象を ILC2 の“疲弊様現象”と名付けることにした。特に、IL-10 と *Tigit* の発現が *Cbfb* 欠損 ILC2 で高かったため、IL-10 と *Tigit* を疲弊様 ILC2 の表現型マーカーとした (図5)。

次に、生体内で疲弊様 ILC2 を見つけるために、IL-10 レポーターマウスに、高容量のパパインを点鼻投与した⁹⁾。パパインは、蛋白分解酵素活性が高いアレルギーンとして、マウス実験でよく使用される。3日おきに投与し7日目、気管内 ILC2 の一部の集団が IL-10 陽性 *Tigit* 陽性となり、IL5 や IL-13 の mRNA メッセージが低下した。気管内の IL-10 陽性 *Tigit* 陽性 ILC2 のトランスクリプトーム解析を行ったところ、疲弊 CD8T 細胞と似たような細胞であることが示唆された。さらに、*Cbfb* 欠損 ILC2 の生理的意義を検討するため、*Cbfb^{fl} PLZF-Cre* マウスの骨髄を野生型に移入し、2か月後に同様のパパイン点鼻投与を行った。すると、*Cbfb* 欠損によって ILC2 の疲弊様現象が増強し、好酸球性アレルギー炎症が軽減した。以上より、*Runx/Cbfb* は、激しいアレルギー炎症下で ILC2 が機能を維持するために必須な転写因子であり、ILC2 の疲弊様現象を抑制することが示唆された (図5)。

以上より、*Runx/Cbfb* は、定常状態の肺では ILC2 の機能を抑制し、アレルギー炎症下では ILC2 の機能性を維持することが示された。この2面性の機序を解析するために、IL-2/IL-7 で試験管培養した ILC2 と IL-2/IL-33 で培養した ILC2 を用いて、*Cbfb* の DNA 結合領域をクロマチン免疫沈降シークエンスで調べた⁹⁾。結果、IL-33 で刺激した ILC2 では、IL-33 で刺激していない ILC2 と比べて、異なる *Cbfb* の結合を認めた。これら IL-33 刺激に特異的な *Cbfb* の結合は、疲弊様 ILC2 の signature 遺伝子である *Il10*, *Tigit*, *Il5*, *Il13*, *Pdcd1* 等に集中していた。以上より、定常

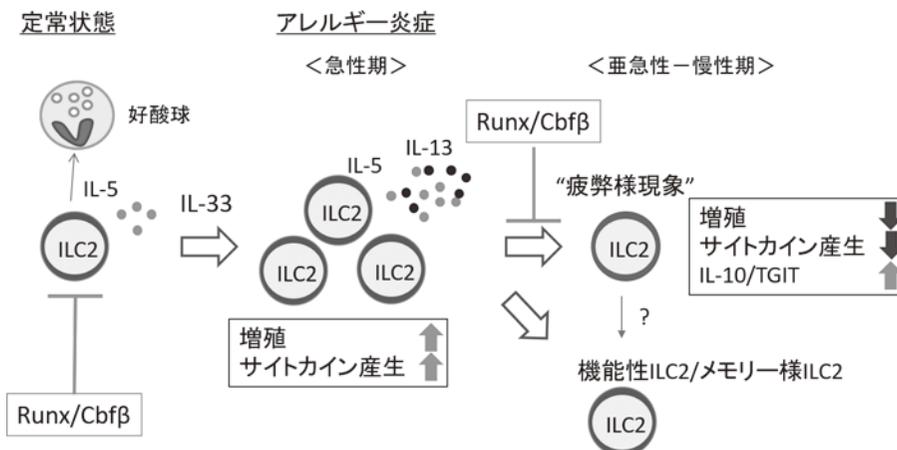


図5. Runx による ILC2 疲弊様現象の抑制

状態の ILC2 とアレルギー炎症下の ILC2 では、Cb β の結合領域が異なり、機能性の違いが生じることが推察された。

疲弊様 ILC2 とメモリー様 ILC2

臨床では、年齢を追うたびに、様々な抗原に対して過敏に免疫応答するようになり、種々のアレルギー性疾患を罹患していくようなケースを経験する。このような現象はアレルギーマーチと呼ばれる。ILC2 はアレルギー炎症を受けるたびにトレーニングされ、メモリー様 ILC2 となる。メモリー様 ILC による過剰な T_H2 サイトカイン応答は、抗原非特異的な反応なので、メモリー様 ILC2 の蓄積は、アレルギー素因形成に寄与すると考えられている。一方、我々が提唱している疲弊様 ILC2 は、メモリー様 ILC2 とは反対に、低応答性示す ILC2 である。疲弊様 ILC2 は、新しい概念であり、未だ多くの疑問が残っている^{8,22)}。疲弊様 ILC2 が、繰り返されるアレルギー炎症によりどの程度蓄積するのか分かっておらず、臨床における生理的意義づけも明らかになっていない。活性化した ILC2 の多様性は既に明らかになっているが、活性化して増殖した ILC2 がどのようにしてメモリー様 ILC2 へと分化していくのか明らかになっていない。これらの点を解決し、メモリー様 ILC2 と疲弊様 ILC2 の運命決定因子を解明することを通して、ILC2 を介したアレルギー性素因形成をコントロールできるようになるのではないかと考えている。

おわりに

本稿では、Runx を介した ILC の分化・機能制御機構について、概説した。NK 細胞・ILC は、10 年以上研究してきており^{6,9,23-26)}、今後も研究の主軸にしたいと考えている。現在は、アレルギー炎症を主に研究しているが、免疫細胞の表現型を検討するために、積極的に微生物を使用していく予定である。私は、かなり自由な環境で研究の楽しさを学んできた。研究者にとって興味や好奇心が最も大事であることを知っている。しががって、私の講座では、一つのモデルや病態に拘らず、面白いと思ったサイエンスを展開していこうと考えている。

文 献

- 1) Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., *et al.* (2018) Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*, **174**, 1054-1066, doi : 10.1016/j.cell.2018.
- 2) Sonnenberg, G.F and Artis, D. (2015) Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation. *Nature Medicine*, **21**, 698-708, doi : 10.1038/nm.3892.
- 3) Moro, K., Yamada, T., Tanabe, M., Takeuchi, T., Ikawa, T., Kawamoto, H., Furusawa, J., Ohtani, M., Fujii, H. and Koyasu, S. (2010) Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit (+) Sca-1 (+) lymphoid cells. *Nature*, **463**, 540-544, doi : 10.1038/nature08636.
- 4) Satoh-Takayama, N., Vosshenrich, C.A., Lesjean-Pottier, S., *et al.* (2008) Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46+ cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity*, **29**, 958-970, doi : 10.1016/j.immuni.2008.11.001.
- 5) Fuchs, A., Vermi, W., Lee, J.S., Lonardi, S., Gilfillan, S., Newberry, R.D., Cella, M. and Colonna, M. (2013) Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN-gamma-producing cells. *Immunity*, **38**, 769-781, doi : 10.1016/j.immuni.2013.02.010.
- 6) Ebihara, T., Song, C., Ryu, S.H., *et al.* (2015) Runx3 specifies lineage commitment of innate lymphoid cells. *Nat. Immunol.*, **16**, 1124-1133, doi : 10.1038/ni.3272.
- 7) Ebihara, T., Seo, W. and Taniuchi, I. (2017) Roles of RUNX Complexes in Immune Cell Development. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **962**, 395-413, doi : 10.1007/978-981-10-3233-2_24.
- 8) Ebihara, T. and Taniuchi, I. (2019) Exhausted-like Group 2 Innate Lymphoid Cells in Chronic Allergic Inflammation. *Trends Immunol.*, **40**, 1095-1104, doi : 10.1016/j.it.2019.10.007.
- 9) Miyamoto, C., Kojo, S., Yamashita, M., Moro, K., Lacaud, G., Shiroguchi, K., Taniuchi, I. and Ebihara, T. (2019) Runx/Cbfbeta complexes protect group 2 innate lymphoid cells from exhausted-like hyporesponsiveness during allergic airway inflammation. *Nat. Commun.*, **10**, 447, doi : 10.1038/s41467-019-08365-0.

- 10) Collins, A., Littman, D.R. and Taniuchi, I. (2009) RUNX proteins in transcription factor networks that regulate T-cell lineage choice. *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 106-115, doi : 10.1038/nri2489.
- 11) Djuretic, I.M., Levanon, D., Negreanu, V., Groner, Y., Rao, A. and Ansel, K.M. (2007) Transcription factors T-bet and Runx3 cooperate to activate Ifng and silence Il4 in T helper type 1 cells. *Nat. Immunol.*, **8**, 145-153, doi : 10.1038/ni1424.
- 12) Yagi, R., Junntila, I.S., Wei, G., Urban, J.F. Jr., Zhao, K., Paul, W.E. and Zhu, J. (2010) The transcription factor GATA3 actively represses RUNX3 protein-regulated production of interferon-gamma. *Immunity*, **32**, 507-517, doi : 10.1016/j.immuni.2010.04.004.
- 13) Naoe, Y., Setoguchi, R., Akiyama, K., Muroi, S., Kuroda, M., Hatam, F., Littman, D.R. and Taniuchi, I. (2007) Repression of interleukin-4 in T helper type 1 cells by Runx/Cbf beta binding to the Il4 silencer. *The Journal of Experimental Medicine*, **204**, 1749-1755, doi : 10.1084/jem.20062456.
- 14) Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., *et al.* (2009) Indispensable role of the Runx1-Cbfbeta transcription complex for in vivo-suppressive function of FoxP3+ regulatory T cells. *Immunity*, **31**, 609-620, doi : 10.1016/j.immuni.2009.09.003.
- 15) Lazarevic, V., Chen, X., Shim, J.H., Hwang, E.S., Jang, E., Bolm, A.N., Oukka, M., Kuchroo, V.K. and Glimcher, L.H. (2011) T-bet represses T(H)17 differentiation by preventing Runx1-mediated activation of the gene encoding RORgamma. *Nat. Immunol.*, **12**, 96-104, doi : 10.1038/ni.1969.
- 16) Yang, Q., Li, F., Harly, C., *et al.* (2015) TCF-1 up-regulation identifies early innate lymphoid progenitors in the bone marrow. *Nature Immunology*, **16**, 1044-1050, doi : 10.1038/ni.3248.
- 17) Klose, C.S.N., Flach, M., Möhle, L., *et al.* (2014) Differentiation of type 1 ILCs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages. *Cell*, **157**, 340-356, doi : 10.1016/j.cell.2014.03.030.
- 18) Constantinides, M.G., McDonald, B.D., Verhoef, P.A. and Bendelac, A. (2014) A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature*, **508**, 397-401, doi : 10.1038/nature13047.
- 19) Tenno, M., Kojo, S., Lawir, D.F., *et al.* (2018) Cbf-beta2 controls differentiation of and confers homing capacity to prethymic progenitors. *J. Exp. Med.*, **215**, 595-610, doi : 10.1084/jem.20171221.
- 20) Ardain, A., Domingo-Gonzalez, R., Das, S., *et al.* (2019) Group 3 innate lymphoid cells mediate early protective immunity against tuberculosis. *Nature*, **570**, 528-532, doi : 10.1038/s41586-019-1276-2.
- 21) Martinez-Gonzalez, I., Mathä, L., Steer, C.A., Ghaedi, M., Poon, G.F. and Takei, F. (2016) Allergen-Experienced Group 2 Innate Lymphoid Cells Acquire Memory-like Properties and Enhance Allergic Lung Inflammation. *Immunity*, **45**, 198-208, doi : 10.1016/j.immuni.2016.06.017.
- 22) Ebihara, T. and Taniuchi, I. (2019) Transcription Factors in the Development and Function of Group 2 Innate Lymphoid Cells. *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, doi : 10.3390/ijms20061377.
- 23) Ebihara, T., Jonsson, A.H. and Yokoyama, W.M. (2013) Natural killer cell licensing in mice with inducible expression of MHC class I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **110**, E4232-4237, doi : 10.1073/pnas.1318255110.
- 24) Ebihara, T., Azuma, M., Oshiumi, H., Kasamatsu, J., Iwabuchi, K., Matsumoto, K., Saito, H., Taniguchi, T., Matsumoto, M. and Seya, T. (2010) Identification of a polyI : C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J. Exp. Med.*, **207**, 2675-2687, doi : 10.1084/jem.20091573.
- 25) Ebihara, T., Shingai, M., Matsumoto, M., Wakita, T. and Seya, T. (2008) Hepatitis C virus-infected hepatocytes extrinsically modulate dendritic cell maturation to activate T cells and natural killer cells. *Hepatology*, **48**, 48-58, doi : 10.1002/hep.22337.
- 26) Ebihara, T., Masuda, H., Akazawa, T., Shingai, M., Kikuta, H., Ariga, T., Matsumoto, M. and Seya, T. (2007) Induction of NKG2D ligands on human dendritic cells by TLR ligand stimulation and RNA virus infection. *Int. Immunol.*, **19**, 1145-1155, doi : 10.1093/intimm/dxm073.