

令和元年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06626

研究課題名(和文)自己免疫疾患の炎症タイプ・標的組織特異性が生じる分子基盤の解明

研究課題名(英文)Elucidating mechanisms how tissue-specific and type-specific inflammation are occurred in autoimmune diseases

研究代表者

村上 龍一 (Murakami, Ryuichi)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・特任助教

研究者番号：60800505

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：一部の自己免疫疾患が組織選択的に発症する原因は不明である。T細胞には炎症を惹起する通常のT細胞(Tconv)以外に抗炎症機能を有する制御性T細胞(Treg)が存在する。これらのT細胞は多様なT細胞受容体(TCR)のレパトアを形成し膨大な数の抗原の認識を可能にしている。本研究では、組織特異的な自己免疫疾患の発症/増悪に対するTconv、TregのTCRレパトア変化の影響を検証できるマウスモデル作製およびTCRレパトア制限が組織特異的な自己免疫疾患の炎症程度に与える影響の評価を行った。結果、適切なモデル作製に成功し、TCRレパトア制限が組織特異的に自己免疫疾患の増悪に寄与することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、組織特異的な自己免疫疾患発症の原因が組織特異的なTregクローンの欠損とそれに紐づく組織特異的な自己反応性Tconvクローンの増加によるのかを検証できるマウスモデルを確立した。さらに、Tregの分化に重要な役割を果たす転写因子Foxp3の変異と抗原認識に関わるTCRレパトアの制限が合間って組織特異的に炎症を増悪させることを示した。これまでのゲノム医学研究により免疫応答を抑制するTreg関連遺伝子と抗原提示に関わるHLA遺伝子の一塩基多型が自己免疫疾患の発症と関連があることが示唆されてきたが、本研究でその分子機構に迫ることのできるマウスモデルを確立できたと考えている。

研究成果の概要(英文)：Some autoimmune diseases occur in a tissue-specific manner. However, it remains elusive how the specificity is controlled. In our body, there is two T cell subsets. One is conventional T cells (Tconv) which promote immune responses, the other is regulatory T cells (Treg) which suppress immune responses. These T cells forms massive diversity of T cell receptor (TCR) repertoire, which enables immune systems to recognize various antigens. In the present study, we established mouse model by which we can address the contribution of TCR repertoire for tissue specificity of autoimmune disease. Besides, we found that restriction of TCR repertoire affected degree of autoimmune inflammation in a tissue-specific manner.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 組織特異性 自己免疫疾患 TCRレパトア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自己に対する免疫寛容の破綻から自己免疫疾患の発症に至るまでの過程を理解し、その発症機構を明らかにすることは、自己免疫疾患を克服するために重要である。自己免疫疾患は多様であり疾患によって炎症の標的組織が異なるが、各疾患の標的組織特異性が形成される仕組みは未だ不明である。

転写因子 Foxp3 によって分化、機能を制御されている制御性 T 細胞(regulatory T cells, Treg)は、免疫応答を亢進する通常の T 細胞(conventional T cells, Tconv)と異なり、様々な免疫応答を抑制し、免疫寛容を確立、維持する上で必須の細胞である。このことは Foxp3 の機能欠損変異により機能的な Treg が失われ、ヒト IPEX 症候群、scurfy マウスに見られる致死的な自己免疫疾患が生じることからも明らかである。申請者の所属する研究室ではこれまでヒト IPEX 症候群に見られる Foxp3 の点変異に着目し、これをマウスに導入することで Foxp3 変異による Treg のどのような機能的側面の異常が自己免疫疾患の発症につながるかを明らかにしてきた。解析の過程で、A384T 変異を有するマウス(以下 Foxp3^{A384T} マウスと記載)では、A384T 変異 Foxp3 により AP-1 ファミリーに属する転写因子 BATF の発現が抑制されることで肺や皮膚などの組織選択的に effector Treg(eTreg)の恒常性が障害され、肺や皮膚などの組織特異的に自己免疫疾患が発症することが明らかとなった。しかしながら、この Treg 恒常性の破綻から、組織特異的な自己免疫応答が生じるまでの詳細な機構は依然として不明であった。

2. 研究の目的

これまでの研究で組織特異的な T 細胞受容体(TCR)を発現する Treg、Tconv が存在すること、特定の TCR を有する Tconv が組織特異的な炎症増悪に寄与することが示されている。このことから、Foxp3^{A384T} マウスの組織特異的な自己免疫疾患発症が、組織特異的な寛容に寄与する TCR を有する Treg クローンの減少、組織特異的な病態増悪に寄与する TCR を有する Tconv クローンの増加によると仮説をたてた。そして、次世代シーケンサーを用いて Foxp3^{A384T} マウスで組織特異的に病態が生じる組織、生じない組織で Treg、Tconv の TCR レパトアを網羅的に解析することでこの仮説を検証し、自己免疫疾患の病態の組織特異性を決める一因を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

(1) 仮説検証モデルマウスの作製と評価

TCR レパトア解析を行う際に、1 細胞=1TCR を保証するため、Foxp3^{A384T} マウスと遺伝子再構成を受けた 1 つの TCRbeta 鎖と片方のアリル由来の TCRalpha 鎖を発現する 1D2b x TCRa^{+/-} マウスを掛け合わせた。そして TCRbeta 鎖を固定した Foxp3^{A384T} マウスでも通常の Foxp3^{A384T} マウス同様組織特異的な自己免疫疾患が発症するか、また、自己免疫疾患が発症する組織でのみ特異的に Treg 減少が見られるかを検証した。

(2) モデルマウスから単離した組織 Treg、Tconv の TCR レパトア解析

作製した 1D2b x TCRa^{+/-} x Foxp3^{A384T} マウス(以後 TCR fixed Foxp3^{A384T} マウスと記載)の炎症の生じた組織、生じなかった組織から Treg、Tconv を単離し、それらの TCRalpha 鎖を次世代シーケンサーによりシーケンスした。本シーケンスデータをもとに、炎症の生じなかった組織では Foxp3^{A384T} 変異によって特定の TCR を有する Treg クローンの減少や Tconv クローンの増加がみられず、炎症の生じた組織では Foxp3^{A384T} 変異によって特定の TCR を有する Treg クローンの減少や Tconv クローンの増加がみられるのかを検証する予定である。

4. 研究成果

(1) 仮説検証モデルマウスの作製と評価

細胞数を指標として作製した TCR fixed Foxp3^{A384T} マウスの各組織における炎症程度を TCR fixed Foxp3^{WT} マウスと比較した。その結果、TCR fixed A384T マウスの皮膚、肺、大腸では顕著な炎症(細胞数の増加)がみられ、肝臓ではわずかな炎症が観察される一方、小腸では炎症が生じていなかった。さらに、組織 Treg の割合解析の結果、TCR fixed A384T マウスにおいて Treg は皮膚、肺、大腸では大きく減少し、肝臓でわずかに減少し、小腸では減少していなかった。このことから、TCR fixed Foxp3^{A384T} マウスでも通常の Foxp3^{A384T} マウスと同様に組織特異的な Treg 減少、Treg 減少がみられる組織での組織特異的な炎症発症が観察されることが明らかとなった。そのため、本モデルマウスを用いて組織炎症と特定の TCR を有する組織 Treg クローンの減少との関係性を明らかにすることができる可能性が示された。

(2) モデルマウスから単離した組織 Treg、Tconv の TCR レパトア解析

TCR fixed Foxp3^{A384T} マウスと Foxp3^{WT} マウスから、皮膚、肺、肝臓、脾臓由来 Treg、Tconv を単離し、TCR レパトアシーケンスを行うための Library を作製し、次世代シーケンサーを用いたシーケンスを行っている。シーケンス結果が出次第解析を進める予定である。

(3) TCR レパトアの制限と Foxp3 変異による組織特異的な病態増悪

TCR fixed Foxp3^{A384T} の解析の過程で、TCR fixed Foxp3^{A384T} マウスの皮膚炎症が Foxp3^{A384T}

マウスよりも増悪している(耳がより肥厚し、細胞数も増加している)ことが明らかとなった。一方で、他の組織においては両方で炎症の程度に差がなかった。また、TCR fixed Foxp3^{WT} マウスと Foxp3^{WT} マウスでは皮膚炎症は生じていなかった。以上のことから、Foxp3 変異と TCR レパトアの制限が合間って、組織特異的な病態悪化が生じる可能性が示された。また、本結果より、TCR レパトアが組織特異的な病態形成に寄与する可能性が強く支持された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Hayatsu N, Miyao T, Tachibana M, Murakami R, Kimura A, Kato T, Kawakami E, Endo TA, Setoguchi R, Watarai H, Nishikawa T, Yasuda T, Yoshida H, and Hori S. Analyses of a Mutant Foxp3 Allele Reveal BATF as a Critical Transcription Factor in the Differentiation and Accumulation of Tissue Regulatory T Cells. *Immunity* 47:268-83 e9, 2017. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.07.008 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

Shohei Hori, Ryuichi Murakami

Molecular control of effector regulatory T cell differentiation and tissue accumulation
第 47 回日本免疫学会学術集会 2018

Ryuichi Murakami, Wataru Ise, Tomohiro Kurosaki, Shohei Hori

The transcription factor BATF functionally cooperates with Foxp3 to control effector program in regulatory T cells
第 47 回日本免疫学会学術集会 2018

村上龍一, 早津徳人, 堀昌平

転写因子 Foxp3 は BATF 依存的な エフェクター制御性 T 細胞の分化・恒常性を制御する
第 18 回東京大学生命科学シンポジウム 2018

村上龍一

転写因子 BATF は Foxp3 と機能的に協調してエフェクター制御性 T 細胞の分化・恒常性を制御する
第 28 回 Kyoto T Cell Conference 2018

Ryuichi Murakami, Norihito Hayatsu, Takahisa Miyao, Takako Kato, Shohei Hori.

Foxp3 and BATF cooperatively control the differentiation of effector regulatory T cells
第 17 回東京大学生命科学シンポジウム 2017

〔図書〕(計 3 件)

村上龍一, 堀昌平

医学のあゆみ 制御性 T 細胞研究の現在 エフェクター型制御性 T 細胞分化・維持の分子基盤
医歯薬出版株式会社 2019

村上龍一, 堀昌平

医学のあゆみ アレルギー研究最前線 制御性 T 細胞によるアレルギー反応の制御
医歯薬出版株式会社 2018

村上龍一, 堀昌平

臨床免疫・アレルギー科 特集 I. 自己免疫疾患 非リンパ組織における制御性 T 細胞の恒常性維持機構
科学評論社 2018

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~bisei/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。