

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16599

研究課題名(和文) 移植片対宿主病におけるDNAM-1を介した制御性T細胞の活性化制御機構の解明

研究課題名(英文) DNAM-1 regulates Foxp3 expression in regulatory T cells by interfering with TIGIT under inflammatory conditions

研究代表者

佐藤 和貴 (Sato, Kazuki)

筑波大学・生存ダイナミクス研究センター・助教

研究者番号：10802621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：制御性T細胞(Treg)は高度な免疫抑制機構の中核を担う重要な細胞であるが、炎症環境ではTregの免疫抑制機能が低下してしまい、炎症性疾患の一因となることが知られている。本研究では、免疫受容体DNAM-1がTregの機能を司る転写因子Foxp3の発現を低下させることでTregの機能不全を促進することを明らかにした。DNAM-1を阻害もしくは欠損させたところ、ヒトとマウス両方のTregにおいて安定したFoxp3発現と高い免疫抑制機能が認められた。今後、自己免疫疾患や炎症性疾患において、Tregの機能亢進を目指したDNAM-1標的療法の開発が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

移植片対宿主病(GVHD)は造血器悪性腫瘍や再生不良性貧血に対する治療として行われる同種造血幹細胞移植における最も重篤な合併症であり、生命予後にも直接影響するため、優れた治療法の開発が急務である。本研究は、免疫抑制機能を担う制御性T細胞(Treg)に着目し、Treg細胞上に発現する免疫受容体DNAM-1を阻害することでTreg細胞の機能を飛躍的に増強させることを見出し、GVHD病態を軽快させる分子機構を解明した。以上の結果より、DNAM-1を標的としたGVHDの新たな治療法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：Immune tolerance is essential to prevent autoimmune responses, but it often needs to be limited for proper immune response. Regulatory T (Treg) cells play a crucial role in immune tolerance; however, their immune-suppressive function is restricted under inflammatory conditions. Here, we show that the activated immune receptor DNAM-1 limits Treg cell function regardless of DNAM-1 mediated intracellular signaling. We found that DNAM-1 competes with T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT) in binding to a common ligand. DNAM-1 deficiency enhances TIGIT signaling, thus resulting in the Treg cell function's maintenance under inflammatory conditions. These results suggest that the DNAM-1 and TIGIT balance orchestrate Treg cell function for optimal immune reaction.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫寛容 制御性T細胞 移植片対宿主病

1. 研究開始当初の背景

移植片対宿主病 (Graft-versus-host disease, GVHD)は、造血器悪性腫瘍や再生不良性貧血に対する治療として行われる同種造血幹細胞移植における最も重篤な合併症であり、移植の成否を左右するばかりでなく、生命予後にも直接影響します。移植後 100 日以内に発症する急性 GVHD は、全身性の炎症を伴う過剰な免疫応答が主因であり、特に肝臓、皮膚や消化管が主な標的臓器となります。急性 GVHD に対する現行の治療は副腎皮質ステロイドなどの免疫抑制剤が第一選択ですが、抵抗性を示すことも多く、より優れた治療法の開発が急務となっています。

GVHD が増悪する一因として、免疫抑制機構の中核を担う制御性 T 細胞 (Regulatory T 細胞, Treg 細胞) が機能不全に陥ることが知られています。しかしながら、GVHD 病態における Treg 細胞の機能がどのように制御されているか、その分子機構の全容は未だ明らかになっておりません。Treg 細胞を標的とした GVHD の治療法開発を目指す上で、Treg 細胞の活性化を制御する機構を解明することは基礎的・臨床的に極めて重要な意義を持ちます。

2. 研究の目的

免疫細胞は、細胞膜上に発現する受容体によって周囲の環境を感知し、免疫応答の調節を行う。本研究は、GVHD 病態の際に発現が上昇する分子に着目し、それらを認識する受容体として DNAM-1 に着目しました。本研究の目的は、炎症に暴露された Treg 細胞における DNAM-1 の機能を解明することである。

3. 研究の方法

炎症を誘導するため、放射線照射したレシピエントマウスに異系ドナーマウスの骨髄細胞と Tconv 細胞、野生型および DNAM-1 欠損 Treg 細胞を移植し、マウス急性移植片対宿主病 (GVHD) モデルを樹立した。移植後の生存率と、脾臓における Treg 細胞の Foxp3 発現を解析した。また、ヒト Treg 細胞における DNAM-1 の機能を解析するために、健常人末梢血単核球 (PBMC) を重度免疫不全マウスに移植することで異種反応性の GVHD を誘導し、抗ヒト DNAM-1 阻害抗体投与後の生存率と Treg 細胞の Foxp3 発現を評価・解析した。

4. 研究成果

マウス GVHD モデルにおいて、通常の Treg 細胞と比較して、DNAM-1 欠損 Treg 細胞は飛躍的にマウスの生存期間を延長させることを見出した。GVHD を誘導したマウスの解析を行なったところ、通常の Treg 細胞と比較して、DNAM-1 を欠損した Treg 細胞は小腸の組織傷害を軽減させ、組織傷害に寄与するエフェクター T 細胞の浸潤を減少させた (図 1)。DNAM-1 が Treg 細胞の機能を制御する分子機構を解き明かすために、シングルセル RNA シーケンスを駆使した解析を行なったところ、DNAM-1 は Treg 細胞の機能の中核となるマスター転写因子 Foxp3 の発現を AKT-mTORC1 経路を介して抑制していることを明らかにした (図 2)。さらに詳細な解析により、DNAM-1 は Treg 細胞に高発現する異なる免疫受容体 TIGIT と競合することで Treg 細胞の機能を抑制することを見出した (図 3)。これまで、TIGIT は Treg 細胞の機能に重要であることが多数報告されており、本研究は TIGIT の機能を調節する因子として DNAM-1 を新たに見出し、炎症環境下における Treg 細胞の機能調節の一端を解明した。

DNAM-1 の阻害がヒト Treg 細胞に与える影響を検証するため、健常人末梢血単核球を重度免疫不全マウスに移植することで異種反応性の GVHD を誘導し、抗ヒト DNAM-1 阻害抗体投与後の生存率と末梢血細胞の解析を行った結果、抗ヒト DNAM-1 阻害抗体投与は顕著に生存期間を延長させ、末梢血中の Treg 細胞の割合を上昇させました (図 4)。

DNAM-1 阻害剤が炎症部位における Treg 細胞の機能を亢進させる有用な標的因子であることが示唆されたため、今後、DNAM-1 標的療法は炎症を契機とした Treg 細胞の機能不全による自己免疫疾患や炎症政党疾患などへの治療応用が期待される。

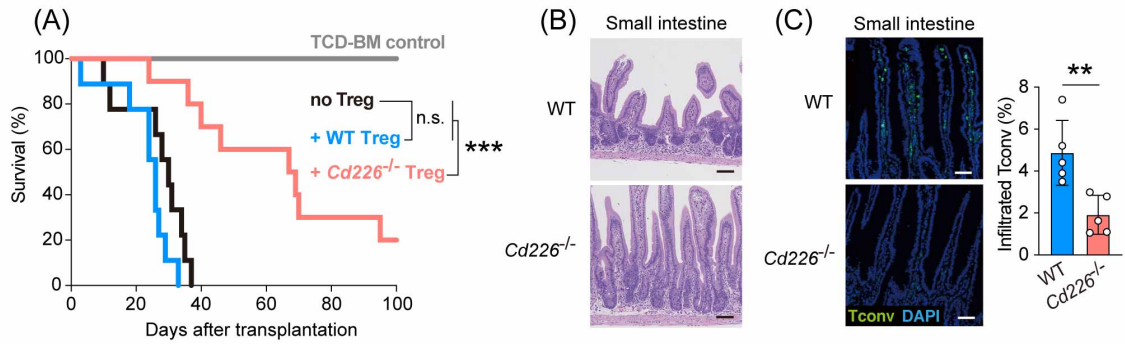


図1 Treg 細胞上の DNAM-1 発現が GVHD 病態に与える影響の検証

(A) 野生型 Treg 細胞(WT Treg)と DNAM-1 遺伝子欠損 Treg 細胞(*Cd226*^{-/-} Treg)を、GVHD 誘導マウスにそれぞれ移植した場合、DNAM-1 欠損 Tregs 細胞はマウスの生存期間を有意に延長させた。

(B) GVHD 誘導後 14 日目の小腸組織において、DNAM-1 欠損 Treg 細胞は組織傷害を顕著に軽減した。

(C) GVHD 誘導後 8 日目の小腸組織において、DNAM-1 欠損 Tregs 細胞はエフェクターT細胞 (Tconv) の浸潤を有意に軽減させた。

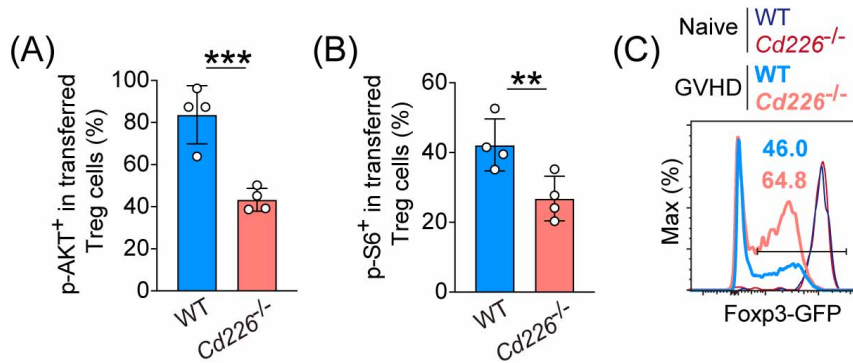


図2 DNAM-1 欠損 Treg 細胞における AKT-mTORC1 経路の活性化と Foxp3 発現

(A, B) AKT-mTORC1 経路の活性化の指標である AKT のリン酸化 (A) と S6 のリン酸化 (B) が GVHD 誘導後の DNAM-1 欠損 Tregs 細胞において有意に減少した。

(C) AKT-mTORC1 経路の過剰な活性化は Treg 細胞の免疫抑制機能の中核を担う Foxp3 発現を負に調節することが知られており、DNAM-1 欠損 Tregs 細胞は GVHD 誘導後であっても高い Foxp3 発現を維持していた。

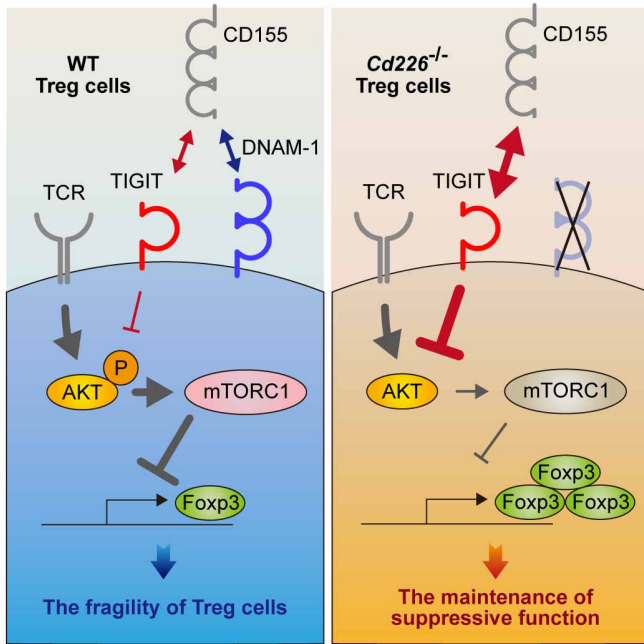


図3 DNAM-1によるTreg細胞の制御機構

DNAM-1と、Treg細胞に高発現するもう一つの免疫受容体TIGITは、これらに対する共通のリガンドCD155との結合において競合することで、Treg細胞の機能を抑制する(左図)。DNAM-1が欠損すると、TIGITのシグナル伝達が促進されるため、AKT-mTORC1経路の抑制が起こり、GVHD病態においてもTreg細胞の機能が維持され、病態が軽減した(右図)。

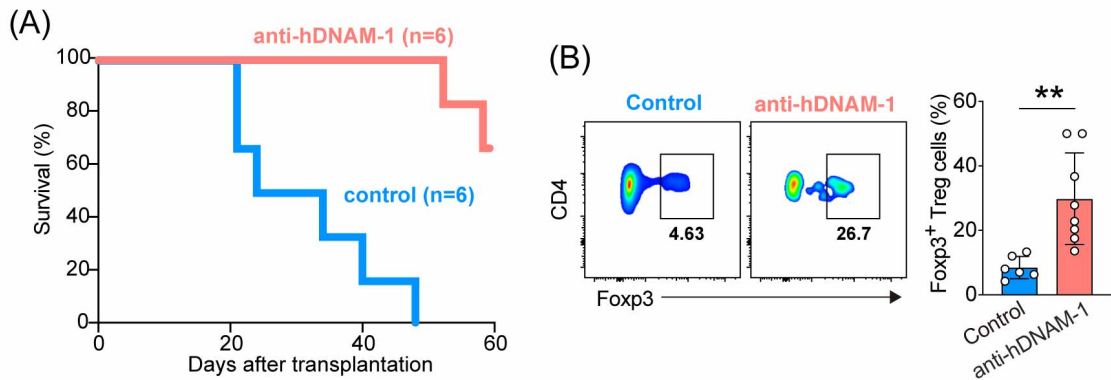


図4 ヒトGVHDモデルマウスを用いたDNAM-1阻害抗体の治療効果の検証

抗ヒトDNAM-1阻害抗体投与は顕著に生存期間を延長させ(A)、末梢血中のTreg細胞の割合を上昇させた(B)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato Kazuki, Yamashita-Kanemaru Yumi, Abe Fumie, Murata Rikito, Nakamura-Shinya Yuho, Kanemaru Kazumasa, Muratani Masafumi, Veillette Andr?, Goto Motohito, Ito Mamoru, Shibuya Akira, Shibuya Kazuko	4. 巻 118
2. 論文標題 DNAM-1 regulates Foxp3 expression in regulatory T cells by interfering with TIGIT under inflammatory conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2021309118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2021309118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kazuki Sato
2. 発表標題 DNAM-1 suppresses Foxp3 stability of regulatory T cells in a TIGIT dependent manner
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤和貴
2. 発表標題 活性化受容体DNAM-1は炎症時の制御性T細胞の機能を抑制する
3. 学会等名 第34回自己免疫研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カナダ	Institut de Recherches Cliniques			