

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16618

研究課題名(和文)脳内制御性T細胞の意義

研究課題名(英文)The significance of regulatory T cells in the brain

研究代表者

伊藤 美菜子(Ito, Minako)

九州大学・生体防御医学研究所・准教授

研究者番号：70793115

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):脳梗塞発症後2週間以上を経過したマウスの脳内には急性期よりもはるかに多くのT細胞が浸潤しており、特に制御性T細胞(Treg)が大量に蓄積した。また脳Tregは脳特異的な性質も示していた。多発性硬化症モデルやアルツハイマーモデルマウスにおいても同様の性質を示すTregの存在を確認した。EAEモデルは脊髄と脳の両方に病態を形成するが、同個体でも脊髄と脳に存在するTregのフェノタイプは異なっており、脳に存在するTregは脳梗塞の脳内に浸潤したTregの特徴に近かった。これらの結果より、組織Tregは病態よりも局在する組織の環境によって性質を獲得している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳梗塞後の脳内に存在する制御性T細胞は、損傷した組織を修復する働きを持っていることが分かった。このように脳組織の修復を促す脳特異的Tregを誘導するメカニズムを解明することで新規治療法を開発出来る可能性がある。

研究成果の概要(英文):More than two weeks after the onset of cerebral infarction, the brain of mice was infiltrated with a much larger number of T cells than in the acute phase, especially with a large accumulation of regulatory T cells (Treg). The brain Treg also showed brain-specific properties. In the EAE model, where both the spinal cord and brain are affected, the phenotypes of Treg in the spinal cord and brain are different, and the brain Treg are similar to those of Treg infiltrated in the infarcted brain. The brain Treg was close to the characteristics of the Treg infiltrated in the brain of cerebral infarction. These results suggest that tissue Treg may acquire properties depending on the environment of the localized tissue rather than the pathology.

研究分野：神経免疫

キーワード：脳梗塞

1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症や抗 NMDA 受容体抗体脳炎などの自己免疫疾患はもちろんのこと、パーキンソン病やアルツハイマー病などの神経変性疾患、さらには自閉症や統合失調症のような精神疾患においても慢性炎症の関連が示唆されている。神経炎症においてはこれまでは自然免疫細胞が主な研究対象であったが、我々の脳梗塞モデルや他の神経変性疾患の研究から広く脳内炎症慢性期には獲得免疫が発動し、脳内細胞を制御している可能性が示唆される。

2. 研究の目的

本研究では脳内炎症における組織の適応・修復課程への制御性 T 細胞の意義およびメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

一般的なマウス中大脳動脈閉塞モデルを用いて、脳梗塞後の脳内の細胞ポピュレーションを明らかにするために、脳梗塞後の急性期・慢性期の脳半球からパーコールグラジエントとセルソーターによりバルクの RNAseq と、一細胞 RNAseq を実施した。さらに、CD4T 細胞の 1 細胞 TCRseq を実施した。

4. 研究成果

脳梗塞発症後 2 週間以上を経過したマウスの脳内には急性期よりもはるかに多くの T 細胞が浸潤しており、特に制御性 T 細胞 (Treg) が大量に蓄積した。また脳 Treg は脳特異的な性質も示していた。多発性硬化症モデルやアルツハイマーモデルマウスにおいても同様の性質を示す Treg の存在を確認した。EAE モデルは脊髄と脳の両方に病態を形成するが、同個体でも脊髄と脳に存在する Treg のフェノタイプは異なっており、脳に存在する Treg は脳梗塞の脳内に浸潤した Treg の特徴に近かった。これらの結果より、組織 Treg は病態よりも局在する組織の環境によって性質を獲得している可能性が示唆された。

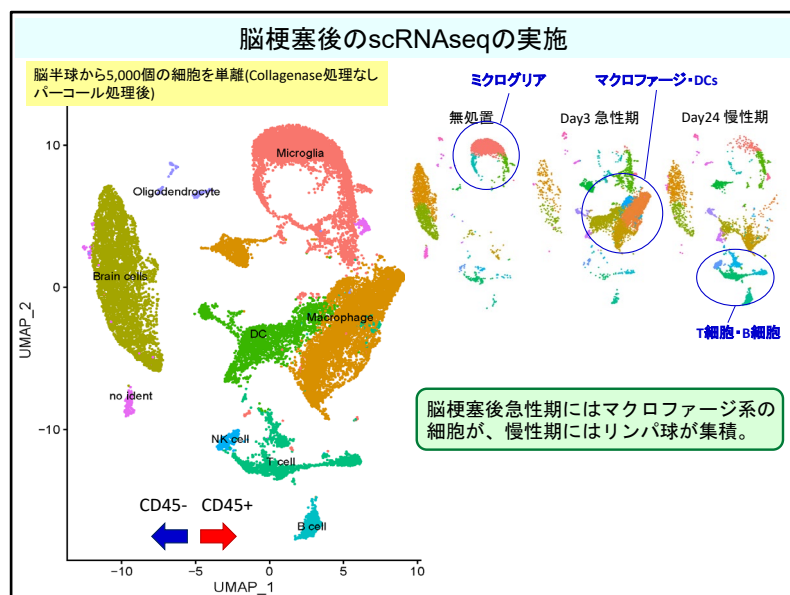
右図のように、ミクログリアや、マクロファージ、樹状細胞、T 細胞、B 細胞と、CD45⁻の脳細胞に分かれた。

5000 細胞のうち、無処置ではミクログリアや脳細胞が多く、急性期ではマクロファージや樹状細胞などの自然免疫細胞が大半を占めるようになった。慢性期で炎症性のマクロファージが居なくなり、T 細胞と B 細胞などの獲得免疫細胞が増えた。

また、ミクログリアのサブクラスター解析を行うと、無

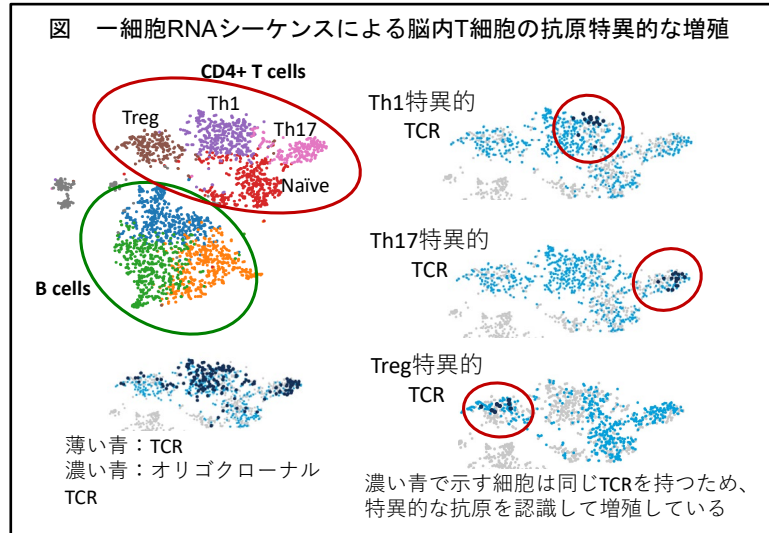
処置では定常状態の細胞集団ですが、急性期で活性化して炎症性の遺伝子などを産生する細胞に変化し、細胞増殖マーカーである Ki67 を発現する細胞集団も現れた。慢性期には細胞増殖もせず、定常状態に近づくことが分かった。

マクロファージや樹状細胞の phenotype について詳細に解析すると、Sham マウスでは全くいないマクロファージや樹状細胞が急性期に大量に浸潤してきます。これらは慢性期にはほとんど



どいなくなり、一部がフェノタイプを変えて存在し続けることが分かった。

慢性期になると、 γ δ T細胞、CD4CD8NKT細胞、NK細胞、B細胞と、様々なリンパ球浸潤が認められ、その中でもCD4陽性T細胞に着目してTCR解析を行った。右図に示すように、CD4T細胞はTreg、Th1、Th17、Naive様Tcellに分かれ、ナイーブ様Tcell以外はオリゴクローナルに増殖して、Th1特異的TCR、Th17特異的TCR、Treg特異的TCRを持つため、特異的な抗原を認識して増殖していることが示唆された。



脳梗塞慢性期にも残存しているマクロファージや樹状細胞は組織修復に関与する可能性があると考えられる。

また、T細胞のTCRに関しては、脳内Th1、Th17、TregはそれぞれTCRが異なり、抗原が異なるとすれば、抗原によってTregのみを誘導がすることが可能かもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Imura Y, Ando M, Kondo T, Ito M, Yoshimura A.	4. 巻 23;5(14)
2. 論文標題 CD19-targeted CAR regulatory T cells suppress B cell pathology without GvHD.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JCI Insight.	6. 最初と最後の頁 e136185
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cti2.1203. eCollection 2020.	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 -

1. 著者名 2.Sakai R, Ito M, Komai K, Iizuka-Koga M, Matsuo K, Nakayama T, Yoshie O, Amano K, Nishimasu H, Nureki O, Kubo M, Yoshimura A.	4. 巻 18(5)
2. 論文標題 Kidney GATA3+ regulatory T cells play roles in the convalescence stage after antibody-mediated renal injury.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Mol Immunol.	6. 最初と最後の頁 1249-1261.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41423-020-00547-x.	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 -

1. 著者名 3.Sakai R, Ito M, Yoshimoto K, Chikuma S, Kurasawa T, Kondo T, Suzuki K, Takeuchi T, Amano K, Yoshimura A.	4. 巻 30;9(11)
2. 論文標題 Tocilizumab monotherapy uncovered the role of the CCL22/17-CCR4+ Treg axis during remission of crescentic glomerulonephritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Transl Immunology.	6. 最初と最後の頁 e1203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.136185.	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 5件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Minako Ito, Akihiko Yoshimura
2. 発表標題 The role of Brain regulatory T cells during the chronic phase after CNS injury
3. 学会等名 Brain & Brain Pet 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤美菜子, 吉村昭彦
2. 発表標題 中枢神経系疾患における制御性T細胞による組織修復機構の解明
3. 学会等名 第40回日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤美菜子, 吉村昭彦
2. 発表標題 脳内炎症における制御性T細胞の意義の解明
3. 学会等名 第84回日本インターフェロン・サイトカイン学会各術集会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤美菜子, 吉村昭彦
2. 発表標題 脳内炎症における脳特異的制御性T細胞の分化機構の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤美菜子
2. 発表標題 Analysis of the dynamics of immune cells after stroke.
3. 学会等名 第63回日本神経化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤美菜子
2. 発表標題 脳梗塞後の免疫細胞の動態と炎症抵抗性の解明
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤美菜子
2. 発表標題 脳梗塞後の免疫細胞の動態と炎症抵抗性獲得機構の解明
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤美菜子
2. 発表標題 Analysis of the Phenotype of Tregs after Ischemic Stroke, and the Interaction between Treg and Foam Cells.
3. 学会等名 JCS2021 Secretariat / 第85回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------	---------