

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16903

研究課題名（和文）新規ストレス誘導性細胞の機能解析とストレスバイオマーカーの確立

研究課題名（英文）Functional analysis of stress-inducible cells and establishment of stress biomarkers

研究代表者

田中 勇希（Tanaka, Yuki）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・主任研究員

研究者番号：50794020

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究にてストレス誘導性細胞集団における受容体Aが高発現することを明らかにしてきた。当該受容体Aに対する中和抗体を投与したところストレス依存性突然死が増加傾向にあった。また、本研究にてストレス依存性に脳内の特定血管に高発現する遺伝子の解析（遺伝子X）も行なった。我々は遺伝子Xに対する抗体を複数作成、蛍光免疫染色を行なったところストレス負荷を行なったマウスの脳内特定血管でシグナルを検出した。さらにストレス突然死モデルに遺伝子Xに対する抗体を投与したところ突然死が抑制されることがわかった。またin vitroの実験にて遺伝子Xの抗体を添加したところIL-6アンブが抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに我々は、慢性的なストレスが脳内の特定血管に病理性T細胞を集積させ、炎症を引き起こすことで末梢-中枢間の臓器連関に多大な影響を及ぼすことを明らかにしてきた。言い換えれば、病理性T細胞は、ストレス刺激を受けることでケモカインレセプターなどの表現型が変化した結果、脳内の特定血管に集積できる可能性があり、その表現型の変化を末梢血レベルで捉えることができれば、疾患発症前に予防策を講じることが可能となる。本研究ではストレスにより増加する細胞集団の解析および特定血管に高発現する遺伝子の解析を実施し、ストレスに対する治療法という概念の確立とともに、社会的に大きな寄与が期待される革新的な研究である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have shown that receptor A is highly expressed in stress-inducible cell populations. When the cells were treated with a neutralizing antibody against this receptor A, stress-dependent sudden death tended to increase. In this study, we also analyzed a gene (gene X) that is highly expressed in specific blood vessels in the brain in a stress-dependent manner. We generated several antibodies against gene X, and fluorescent immunostaining revealed signals in specific blood vessels in the brains of mice subjected to stress. Furthermore, we found that administration of antibodies to gene X suppressed sudden death in a stress sudden death model. In vitro experiments showed that IL-6 amp suppressed when gene X antibodies were added.

研究分野：免疫学

キーワード：ストレス ゲートウェイ反射 IL-6アンブ

1. 研究開始当初の背景

これまでに我々は、重力、痛み、電気刺激などの局所神経の活性化が特定血管に炎症を引き起こすことで、免疫細胞の中枢への侵入口を形成するメカニズム「ゲートウェイ反射」を提唱してきた。また近年、T細胞依存性の自己免疫病態を誘導したマウスに過度のストレスを施すことで、脳内の特異血管に病原性 T 細胞の集積および炎症が生じ、それによって神経回路が異常に活性化され、末梢臓器の機能異常から突然死を引き起こすストレスゲートウェイ反射が誘導されることを明らかにした。このことは、特定の免疫細胞の挙動とストレスによる臓器障害の機能的繋がりを示している。しかしながら、脳内に侵入してくる病原性 T 細胞がどのような特徴を持っているかは未だ不明である。言い換えれば、この細胞の特異的マーカーを同定することで、ストレスに起因する臓器障害の早期診断につながるバイオマーカーや治療標的となりうる。また予備実験により、ストレス下で飼育したマウスの末梢血および脾臓ではこれまでに報告のない特定の表面マーカーを有する免疫細胞群が増えることが分かった。そこで本申請では脳内病原性 T 細胞やストレスによって変動する免疫細胞集団の特徴的なマーカーをまずマウスにおいて探索し、そのなかでヒトにも存在する分子を選別し、ストレス性臓器障害の新規バイオマーカー及び治療標的を同定することを目的とする。

2. 研究の目的

我々は独自の発見であるストレスゲートウェイ反射から、中枢の自己抗原に対する病原性 T 細胞の存在量が、ストレスに対する個々の感受性の違いを生み出す可能性を示唆する結果を得ている。さらに、ストレス下で飼育したマウスの末梢血および脾臓において、これまでに報告のない免疫細胞群が増えることを見出した(未発表)。つまり本研究は、末梢血中の特定の免疫細胞の解析を行うことで、慢性ストレスによる末梢臓器の機能低下を予測・治療することが可能か？を学術的な問いとして研究を行う。

3. 研究の方法

ストレス依存的に増加する免疫細胞集団の機能解析

ストレスに応じて末梢血および脾臓で、ある免疫細胞集団が増加することがわかった。本実験では当該免疫細胞集団がどのような表現型を有するか、その特異的マーカーを同定する。

ストレスによる脳特定血管高発現分子の同定

これまでに我々は過剰なストレスが脳内に新たな神経回路を形成することで、視床、海馬、歯状回に囲まれた特定血管に自己反応性 T 細胞が集積することを明らかとしてきた(ストレスゲートウェイ反射)。本実験ではストレスにより誘導される脳特定血管にどのような遺伝子発現があるかを検討するため RNA シークエンスにて高発現分子の同定を行った。

脳特定血管における高発現分子の機能解析

で複数同定された高発現分子のうち遺伝子 X に着目しその機能解析を in vitro および in vivo にて実施した。

4. 研究成果

ストレス依存的に増加する細胞集団をソーティング後、RNA シークエンスを実施、高発現する候補遺伝子を抽出し、さらにフローサイトメトリーによるバリデーションを行なった結果、当該細胞集団は受容体 A を特異的に高発現することが明らかとなった(図 1)。

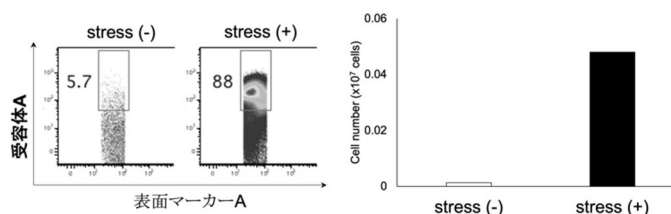


図1. ストレス誘導性免疫細胞の発現解析

脳特定血管を採取、RNA シークエンスを実施したところ複数の遺伝子が高発現することが明らかとなった。その中でもストレス性突然死に対する機能が未だ不明な遺伝子 X に着目した。

突然死モデルに対し遺伝子 X に対する抗体を投与、その表現型を検討したところ突然死の抑制傾向を認めた (図 2A)。さらに *in vitro* の実験系にて炎症誘導機構の一つである IL-6 アンプが抑制されるかを培養中の細胞に遺伝子 X 抗体を添加して検討を行なった。その結果、IL-6 アンプ活性化の指標である IL-6 の発現は有意に抑制された (図 2B)。

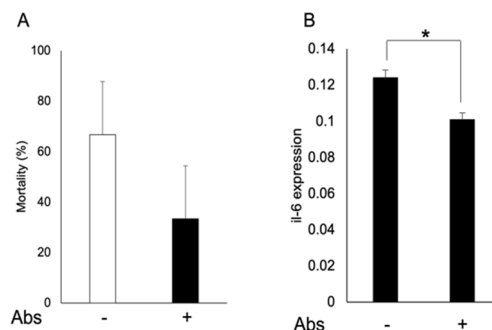


図2. 抗遺伝子X抗体による表現系解析

< 引用文献 >

1. Arima Y, M Harada, D Kamimura, J Park, F Kawano, FE Yull, T Kawamoto, Y Iwakura, UAK Betz, G Márquez, T S Blackwell, Y Ohira, T Hirano, M Murakami. Regional Neural Activation Defines a Gateway for Autoreactive T Cells to Cross the Blood-Brain Barrier. *Cell*. 148: 447-457, 2012.
2. Arima, Y., D. Kamimura, T. Atsumi, M. Harada, T. Kawamoto, N. Nishikawa, A. Stofkova, T. Ohki, K. Higuchi, Y. Morimoto, P. Wieghofer, Y. Okada, Y. Mori, S. Sakoda, S. Saika, Y. Yoshioka, I. Komuro, T. Yamashita, T. Hirano, M. Prinz, M. Murakami. A pain-mediated neural signal induces relapse in multiple sclerosis models. *eLife* 4: e08733, 2015.
3. Arima, Y., T. Ohki, N. Nishikawa, K. Higuchi, M. Ota, Y. Tanaka, J. Nio-Kobayashi, M. Elfeky, R. Sakai, Y. Mori, T. Kawamoto, A. Stofkova, Y. Sakashita, Y. Morimoto, M. Kuwatani, T. Iwanaga, Y. Yoshioka, N. Sakamoto, A. Yoshimura, M. Takiguchi, S. Sakoda, M. Prinz, D. Kamimura, M. Murakami. Brain micro-inflammation at specific vessels dysregulates organ-homeostasis via the activation of a new neural circuit. *eLife* 6:e25517, 2017.
4. Murakami, M., D. Kamimura and T. Hirano. Pleiotropy and Specificity: Insights from the Interleukin 6 Family of Cytokines. *Immunity*. 50, 812-831, 2019.
5. Hirano, T., M. Murakami. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity*, 2020, 52: 1-3.

5. 主な論文発表等 (計 2 件)

1. Nobuya Abe, Masato Tarumi, Yuichiro Fujieda, Nobuhiko Takahashi, Kohei Karino, Mona Uchida, Michihito Kono, Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Masaru Kato, Olga Amengual, Yoshiyuki Arinuma, Kenji Oku, Wakiro Sato, Khin Khin Tha, Miwako Yamasaki, Masahiko Watanabe, Tatsuya Atsumi, Masaaki Murakami, Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in systemic lupus erythematosus, *Ann. Rheum. Dis.* 2022; 81: 1564-1575.
2. Rie Hasebe, Kaoru Murakami, Masaya Harada, Nada Halaka, Hiroshi Nakagawa, Fuminori Kawano, Yoshinobu Ohira, Tadafumi Kawamoto, Fiona E. Yull, Timothy S. Blackwell, Junko Nio-Kobayashi, Toshihiko Iwanaga, Masahiko Watanabe, Nobuhiro Watanabe, Harumi Hotta, Toshihide Yamashita, Daisuke Kamimura, Yuki Tanaka, Masaaki Murakami, ATP spreads inflammation to other limbs through crosstalk between sensory neurons and interneurons. *J. Exp. Med.* 2022; 219(6): e20212019.

< 学会発表 > (計 2 件)

1. Tanaka Yuki, Abe Nobuya, Tarumi Masato, Hasebe Rie, Atsumi Tatsuya and Murakami Masaaki、Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in SLE、第 51 回日本免疫学会学術集会、2022

2. ムーンショット研究：微小炎症制御プロジェクトとは？ <量子技術と神経回路の人為的な制御による健康長寿社会実現への挑戦>、田中 勇希，大木 出，村上 正晃、日本科学振興協会キックオフミーティング、2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Shiina Matsuyama, Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Shintaro Hojyo and Masaaki Murakami	4. 巻 12
2. 論文標題 Gateway Reflex and Mechanotransduction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Immunol	6. 最初と最後の頁 780451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.780451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimoyama S, Nakagawa I, Jiang J-J, Matsumoto I, Chiorini JA, Hasegawa Y, Ohara O, Hasebe R, Ota M, Uchida M, Kamimura D, Hojyo S, Tanaka Y, Atsumi T, Murakami M	4. 巻 33
2. 論文標題 Sjgren 's syndrome-associated SNPs increase GTF2I expression in salivary gland cells to enhance inflammation development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 423-434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Uchida M, Yamamoto R, Matsuyama S, Murakami K, Hasebe R, Hojyo S, Tanaka Y, Murakami M	4. 巻 34
2. 論文標題 Gateway reflexes, neuronal circuits that regulate the gateways for autoreactive T cells in organs that have blood barriers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int Immunol	6. 最初と最後の頁 59-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab022.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Murakami K, Kamimura D, Hasebe R, Uchida M, Abe N, Yamamoto R, Jiang J-J, Hidaka Y, Nakanishi Y, Fujii S, Toda Y, Toda N, Tanaka H, Akira S, Tanaka Y, Murakami M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Rhodobacter azotoformans BP0899 LPS (RAP99-LPS) is a TLR4 agonist that inhibits lung metastasis and enhances TLR3-mediated chemokine expression.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 675909
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.675909	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haruka Higuchi , Daisuke Kamimura , Jing-Jing Jiang , Toru Atsumi , Daiki Iwami , Kiyohiko Hotta , Hiroshi Harada , Yusuke Takada , Hiromi Kanno-Okada , Kanako C Hatanaka, Yuki Tanaka , Nobuo Shinohara , Masaaki Murakami	4. 巻 32
2. 論文標題 Orosomucoid 1 is involved in the development of chronic allograft rejection after kidney transplantation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int Immunol .	6. 最初と最後の頁 335-346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takada, Y., D. Kamimura, J-J. Jian, H. Higuchi, D. Iwami, K. Hotta, Y. Tanaka, M. Ota, M. Higuchi, S. Nishio, T. Atsumi, N. Shinohara, Y. Matsuno, T. Tsuji, T. Tanabe, H. Sasaki, N. Iwahara, and M. Murakami.	4. 巻 32
2. 論文標題 Increased urinary exosomal SYT17 in chronic active antibody-mediated rejection after kidney transplantation via the IL-6 amplifier.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 653-662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Higuchi, H., D. Kamimura, J-J. Jian, T. Atsumi, D. Iwami, K. Hotta, H. Harada, Y. Takada Y, H. Kanno-Okada, KC. Hatanaka, Y. Tanaka, N. Shinohara, and M. Murakami.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Orosomucoid 1 is involved in the development of chronic allograft rejection after kidney transplantation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int Immunol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa003.	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 Kamimura, D., Y. Tanaka, R. Hasebe and M. Murakami.	4. 巻 dxz083
2. 論文標題 Bidirectional communication between neural and immune systems.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz083	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 Ota, M., Y. Tanaka, I. Nakagawa, J. J. Jiang, Y. Arima, D. Kamimura, T. Onodera, N. Iwasaki and M. Murakami.	4. 巻 72
2. 論文標題 Role of Chondrocytes in the Development of Rheumatoid Arthritis Via Transmembrane Protein 147-Mediated NF- B Activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis Rheumatol	6. 最初と最後の頁 931-942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.41182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nobuya Abe, Masato Tarumi, Yuichiro Fujieda, Nobuhiko Takahashi, Kohei Karino, Mona Uchida, Michihito Kono, Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Masaru Kato, Olga Amengual, Yoshiyuki Arinuma, Kenji Oku, Wakiro Sato, Khin Khin Tha, Miwako Yamasaki, Masahiko Watanabe, Tatsuya Atsumi, Masaaki Murakami	4. 巻 81
2. 論文標題 Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ann. Rheum. Dis	6. 最初と最後の頁 1564-1575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/ard-2022-222566	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rie Hasebe et al.	4. 巻 219
2. 論文標題 ATP spreads inflammation to other limbs through crosstalk between sensory neurons and interneurons	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Exp. Med	6. 最初と最後の頁 e20212019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20212019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 田中 勇希
2. 発表標題 代謝産物 NTP1 による慢性炎症抑制機構の解明
3. 学会等名 第88回日本インターフェロン・サイトカイン学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中勇希、太田光俊、中川育磨、蔣菁菁、有馬康伸、上村大輔、小野寺智洋、岩崎倫政、村上正晃
2. 発表標題 TME147 はIL-6 アンプの活性化を介して関節炎の増悪に寄与する
3. 学会等名 量子生命科学会第3回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 勇希
2. 発表標題 Roles of a metabolite during EAE development
3. 学会等名 第16回生命医科学研究所ネットワーク国際シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 勇希
2. 発表標題 代謝産物による中枢性炎症制御メカニズムの解明
3. 学会等名 量子生命科学先端フォーラム 2021冬の研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuki Tanaka, Shuhei Shimoyama, Ikuma Nakagawa, Shintaro Hojyo, Masaaki Murakami
2. 発表標題 自己免疫疾患関連遺伝子によるIL 6アンプ活性化機構の解明
3. 学会等名 北海道病理談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中 勇希、樋口 まどか、田中 くみ子、上村 大輔、村上 正晃
2. 発表標題 NTP1による慢性炎症抑制機構の解明
3. 学会等名 量子生命科学学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuki Tanaka, Mitsutoshi Ota, Daisuke Kamimura, Masaaki Murakami
2. 発表標題 Presenilin-1 regulates inflammation development via BCR/CK2 -NF B axis.
3. 学会等名 日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 勇希, 大木 出, 村上 正晃
2. 発表標題 ムーンショット研究：微小炎症制御プロジェクトとは？ <量子技術と神経回路の人為的な制御による健康長寿社会実現への挑戦>
3. 学会等名 日本科学振興協会キックオフミーティング
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 1.Tanaka Yuki, Abe Nobuya, Tarumi Masato, Hasebe Rie, Atsumi Tatsuya and Murakami Masaaki
2. 発表標題 Pathogenic neuropsychiatric effect of stress-induced microglial interleukin 12/23 axis in SLE
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------	---------