

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16294

研究課題名(和文) Analysis on detrimental interplay between pathogenic helper T cells, inflammatory antigen-presenting cells and disease-associated microglia in chronic pathogenesis of multiple sclerosis

研究課題名(英文) Analysis on detrimental interplay between pathogenic helper T cells, inflammatory antigen-presenting cells and disease-associated microglia in chronic pathogenesis of multiple sclerosis

研究代表者

張 晨陽 (ZHANG, CHENYANG)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：40768363

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)：神経変性の病理学的プロセスは非常に複雑であり、メカニズムはよく解明されていない。この研究では、神経免疫相互作用がEomes+Th細胞関連神経変性への移行に本質的な役割を果たすことを示しています。この移行は、中枢神経系におけるIFN- $\gamma$ の蓄積と、病原性Eomes+Th細胞の誘導と並行したミクログリアにおける表面マーカーClec7aのアップレギュレーションに関連しています。さらに、long interspersed nuclear element-1 (L1)を、ミクログリアからのIFN- $\gamma$ の顕著な誘導因子として、またCNS Th細胞に提示される優勢な原型抗原として同定しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により、慢性炎症がミクログリアとEomes+ Th細胞の機能変動を誘発することが明らかになった。これらの免疫細胞の活性化は、これまで知られていなかった機能的な悪循環を引き起こし、自己抗原の異所性発現を通じて神経変性に至ることが明らかになった。本研究により、免疫細胞を介した神経変性につながる神経炎症のハブとして、ミクログリアが重要な役割を担っていることを強く示唆している。

研究成果の概要(英文)：The pathological process of neurodegeneration is highly complex and mechanisms are poorly understood. Although cell autonomous neurodegeneration was the major focus of research, non-cell autonomous cues have recently come to the fore. In this study, we demonstrate that neuroimmune interaction plays an intrinsic role in the transition to Eomes+ Th cell-associated neurodegeneration during EAE. This transition is associated with the accumulation of IFN- $\gamma$  in the CNS and upregulation of surface marker Clec7a in microglia in parallel with the induction of pathogenic Eomes+ Th cells. Furthermore, we identified long interspersed nuclear element-1 (L1) as a prominent inducer of IFN- $\gamma$  from microglia and as a dominant prototypic antigen that is presented to CNS Th cells.

研究分野：neuroimmunology

キーワード：neurodegeneration microglia EAE

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症 (MS) は、中枢神経系で最もよく見られる炎症性疾患の一つである。MS の病態、特に二次性進行性 MS (SPMS) の病態は非常に複雑であり、これまでほとんどメカニズムがわかっていない。

我々は、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) および二次性進行性 MS 患者の病態に、Eomes+ ヘルパー T 細胞 (Th) が重要な役割を担っていることを明らかにした。また、疾患発症時に中枢神経系に浸潤する炎症性抗原提示細胞 (APCs) がプロラクチン (PRL) の異所的な産生を介して、Eomes+ Th 細胞を誘導することを突き止めた。

そして、疾患の進行に伴い、IFN- $\gamma$  の発現が増加する一方で、ホメオスタシス関連遺伝子の発現が減少しているミクログリアのサブセットを同定した。さらに、EAE 後期のミクログリアにおける MHC クラス II 発現の上昇とミクログリア由来のタンパク質産物が Eomes+ Th 細胞の活性化を誘導することから、ミクログリアが未知の自己抗原提示を介して Eomes+ Th 細胞の発生に直接影響している可能性を示している。

我々は、長期にわたる炎症状態がミクログリアのホメオスタシスを破壊し、ミクログリアが病原性 Eomes+ Th 細胞の発生を促進することを予想している。

### 2. 研究の目的

EAE モデルを用いて、慢性神経炎症におけるミクログリアの病原因的な役割を明らかにする。

### 3. 研究の方法

- 1) EAE におけるミクログリアの役割を評価するため、ミノサイクリンを投与し、ミクログリアの活性化を阻害した。
- 2) 抗 IFNAR モノクローナル抗体または IFNAR KO マウスを用いて、慢性 EAE における IFN- $\gamma$  の機能を評価した。
- 3) Genechip 解析およびシングルセル解析による EAE 後期のミクログリアにおける遺伝子発現差の解析した。
- 4) CNS Th 細胞活性化に寄与する CNS 自己抗原を *in vitro* 翻訳アッセイと Vb レポートリーアッセイで決定した。

### 4. 研究成果

#### 1) ミクログリア活性化阻害は臨床的 EAE を抑制する

ミノサイクリン投与により、T 細胞、B 細胞、non-B MHC II+APC の中枢神経系への浸潤が抑制され、臨床的な EAE 症状が消失した。CNS 内の Eomes+ Th 細胞数も、この治療によって後期には大幅に減少した。また B 細胞および非 B 細胞 APC 集団の両方による PRL 発現も著しく減少した。IFN- $\alpha$ 2 や - $\beta$ 1 といった IFN- $\gamma$  ファミリーメンバーの発現も有意に減少した。これらの結果は、病原性 Eomes+ Th 細胞の誘導におけるミクログリアの役割を支持し、ミクログリアや他のグリア細胞由来の IFN- $\gamma$  とそれに続く APC からの PRL 産生が、細胞間相互作用を調節するための重要な役割を担うことを示唆している。

#### 2) IFN- $\gamma$ 阻害は後期 EAE を抑制する

IFNAR 阻害および IFNAR KO マウスでは、特に慢性期の臨床症状が減弱し、それに伴って中枢神経系における Eomes+ Th の集積が減少した。

#### 3) EAE 関連ミクログリアの機能的異質性

アルツハイマー病モデル動物において、ミクログリアは正常、早期反応性、後期反応性サブセッ

トからなり、後者は高い IFN-I シグネチャーと MHC クラス II 発現という疾患関連表現型を示すことが、遺伝子チップ解析と単一細胞解析によって明らかにされた。

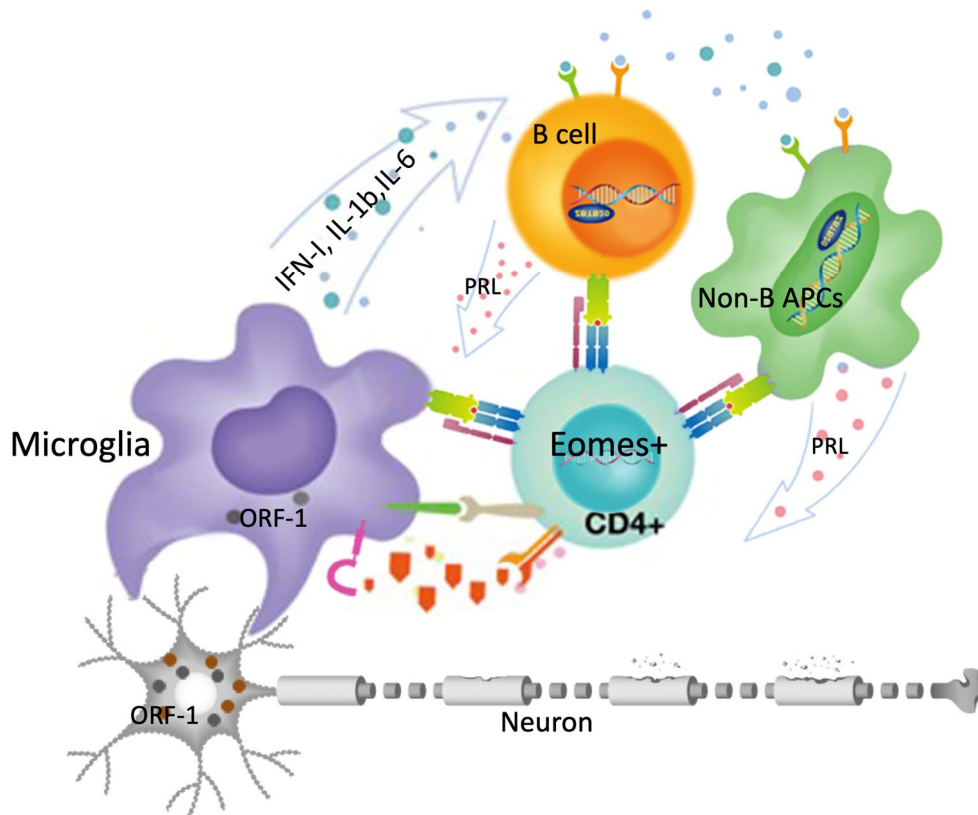
4) L1 レトロトランスポゾンにコードされるタンパク質である ORF-1 は後期 EAE の病態の引き金になる可能性がある

L1 レトロトランスポゾンに由来する ORF1 は、ミクログリア MHC クラス II 上に提示され、中枢神経系に浸潤した Th 細胞を活性化する。重要なことは、この抗原は多様な T 細胞受容体レパートリーを持つ CNS Th 細胞によって認識され、T 細胞応答が慢性期に徐々に増強されることである。

今回の研究により、慢性炎症が CNS のミクログリアと Eomes+ Th 細胞の機能変動を誘発することが明らかになった。

これらの免疫細胞の活性化は、これまで知られていなかった機能的な悪循環を引き起こし、IFN-I の上昇と L1 タンパク質の異所性発現を通じて神経変性に至ることが明らかになった (図)。

本研究により、免疫細胞を介した神経変性につながる神経炎症のハブとして、ミクログリアが重要な役割を担っていることを強く示唆している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Raveney Ben J. E., Sato Wakiro, Takewaki Daiki, Zhang Chenyang, Kanazawa Tomomi, Lin Youwei, Okamoto Tomoko, Araki Manabu, Kimura Yukio, Sato Noriko, Sano Terunori, Saito Yuko, Oki Shinji, Yamamura Takashi	4. 巻 118
2. 論文標題 Involvement of cytotoxic Eomes-expressing CD4+ T cells in secondary progressive multiple sclerosis	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 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2021818118	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 Takahashi Fumio, Zhang Chenyang, Hohjoh Hirohiko, Raveney Ben, Yamamura Takashi, Hayashi Nobuhiro, Oki Shinji	4. 巻 25
2. 論文標題 Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element-1	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 104278 ~ 104278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.104278	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大木 伸司、張 晨陽、山村 隆
2. 発表標題 神経変性病態に伴う慢性炎症環境の分子機序の解明
3. 学会等名 第32回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大木 伸司、張 晨陽、山村 隆
2. 発表標題 神経変性病態における免疫依存性神経細胞障害機序の解明
3. 学会等名 第32回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究協力者	レイベニ ベン (Raveney Ben)	免疫研究部  (82611)	
研究協力者	高橋 文緒 (TAKAHASHI FUMIO)	免疫研究部  (82611)	
研究協力者	大木 伸司 (SHINJI OKI)	免疫研究部・室長  (82611)	
研究協力者	山村 隆 (YAMAMURA TAKASHI)	免疫研究部・部長  (82611)	

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
---------	---------