

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K19632

研究課題名（和文）脂肪酸結合タンパク質を起点とした形質細胞様樹状細胞と制御性T細胞連関の機能解明

研究課題名（英文）Functional elucidation of plasmacytoid dendritic cell-regulatory T cell linkage regulated by fatty acid binding proteins

研究代表者

小林 周平（Kobayashi, Shuhei）

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：90851345

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）：申請者は、FABP5を欠失した形質細胞様樹状細胞（pDC）は、末梢における制御性T細胞（Treg）の誘導能が減弱することを見出した。また、FABP5欠損pDCにより誘導されたTregは、主要転写因子であるFoxp3の発現が減弱しており、免疫抑制能が低下することも明らかにした。FABP5欠損マウスでは、腫瘍微小環境内に集積したpDCによるTregの誘導が減少し、腫瘍の増殖が抑制される。これらのことから、pDCにおけるFABP5を介した脂質恒常性が、他の免疫細胞への関与により炎症性疾患を制御するという新規免疫メカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、pDCが腫瘍微小環境内（TME）で重要な役割を担うことが示唆されている。またTMEは、糖をはじめとする栄養状態が異常になっていることが報告されている一方で、脂質代謝異常が免疫細胞に及ぼす影響は未だ不明な点が多く存在する。本成果によって、TME内で重要な位置づけにあるTregの誘導に、pDCにおけるFABP5を介した脂質恒常性が強く関与することが明らかになった。これら脂質恒常性を介した細胞連関の理解は、炎症性疾患における免疫制御の包括的な理解のためには必要不可欠であり、本研究成果はその一つを明らかにした重要なものであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found that FABP5-deficient pDCs have a lower ability to induction of Tregs compared to wild-type pDCs in the periphery. Tregs induced by FABP5-deficient pDCs showed an attenuated Foxp3 expression, a master regulator of them, and a decreased immunosuppressive capacity. In FABP5-deficient mice, the induction of Tregs by pDCs accumulated in the tumor microenvironment is reduced, which leads to an inhibition of tumor growth. These findings suggest the novel immunological mechanisms that FABP5-mediated lipid homeostasis in pDCs regulates inflammatory diseases by affecting other immune cells.

研究分野：免疫学

キーワード：FABP pDC Treg lipid metabolism

## 1. 研究開始当初の背景

近年、脂質の重要な構成要素である長鎖脂肪酸の摂取量変化による炎症性疾患の寛解や増悪が報告されており、脂質栄養環境による免疫細胞の制御に大きな注目が集まっている。これまで、脂肪酸代謝が免疫細胞と病態発症に及ぼす影響を明らかにするために、その制御機構を明かす脂質恒常性の環境応答の鍵となる脂肪酸結合タンパク質(Fatty acid-binding protein; FABP)に着目して研究を実施してきた。その中で、生体の脂質恒常性の変化が免疫細胞の機能や病態発症に強く関与することを明らかにしてきた。

炎症疾患の病態制御を理解する上で免疫細胞のネットワークの解明は不可欠である。制御性 T 細胞(Regulatory T cell; Treg)は過剰な免疫応答を抑制する役割を担い、自己免疫疾患や炎症性疾患、アレルギーなどの惹起を抑制する。近年の研究から、Treg の誘導に必要な因子の一つに形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cell; pDC)があげられ、この pDC-Treg 連関がアテローム性動脈硬化症や食物アレルギーなどの抑制に重要であることが相次いで示されている。また、pDC は、Treg を介さない直接的な病態制御も報告されており、pDC を根幹とした pDC-Treg 連関が疾患治療の重要な標的となると考えられる。しかしながら、pDC の活性化や pDC が Treg を誘導する機構としてのサイトカイン(タンパク質性液性因子)の重要性は明らかになりつつあるが、炎症疾患病態と密接に関わっている脂質の細胞内外環境変化に対して pDC-Treg 連関が、いかなる応答をするか、については未だ謎に包まれている。

申請者は、野生型マウスの脾臓から単離した pDC が FABP5 を高発現するという基礎データを得た。これは FABP5 を介した脂質恒常性が pDC における免疫機能の制御に関与していることを示唆する。

## 2. 研究の目的

本研究では、脂質恒常性維持に必要な分子 FABP5 による pDC の免疫制御機構の解明を目的とする。

## 3. 研究の方法

野生型および FABP5 欠損マウスの背部にマウス B16F10 メラノーマ細胞株を播種する担癌モデルを実施し、経時的な腫瘍径の測定を行った。採取した腫瘍組織における免疫組織化学的評価によって Treg および Ki67 陽性細胞を定量化した。また各マウスの脾臓から pDC を精製し、In vitro において各種 TLR リガンドや B16F10 メラノーマ細胞株の培養上清による刺激を行い、遺伝子発現を Real time-qPCR にて評価した。同様に脾臓から精製した Naïve CD4+T 細胞と pDC を共培養し、誘導された Treg の機能評価を行った。

## 4. 研究成果

マウス B16F10 メラノーマ細胞株を用いた担癌モデルにおいて、野生型マウスと比較して、FABP5 欠損マウスの腫瘍径が有意に抑制されるという結果を得た。FABP5 欠損

マウス由来の腫瘍組織では、CD8 + T 細胞の割合が増加し、Treg の割合が減少していた。一方で、pDC の割合に関しては両群間で有意な差は認められなかった。しかしながら、FABP5 欠損マウスから採取した腫瘍由来の FABP5 欠損 pDC は、I 型インターフェロンや IL-6 の発現が亢進する一方で、TGF- $\beta$  や IDO-1 の発現は減弱した。さらに、それぞれのマウスの脾臓由来の pDC を In vitro において、TLR リガンドである R848 や CpG-DNA、B16F10 メラノーマ細胞株の培養上清による刺激を行ったところ、腫瘍由来の pDC の表現型と同様に、FABP5 欠損 pDC は I 型インターフェロンや IL-6 の発現が亢進する一方で、TGF- $\beta$  や IDO-1 の発現は減弱した。また、これらの遺伝子発現の亢進に伴って IRF7 や p-p65 の発現亢進が認められた。

野生型もしくは FABP5 欠損マウスから単離した pDC と、コンジェニック野生型マウスから精製した Naïve CD4+T 細胞を共培養して Treg を誘導したところ、FABP5 欠損マウス由来の pDC は Treg の誘導が顕著に減少した。また FABP5 欠損 pDC に誘導された Treg は、Foxp3 の発現が減弱しており、免疫抑制能も低下していることが明らかになった。

以上の事から、pDC における FABP5 を介した脂質恒常性が末梢での Treg 誘導に対して影響を及ぼし、免疫応答の制御に関与するという新たな免疫機構を明らかにした。

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 Kobayashi Shuhei, Phung Hai The, Kagawa Yoshiteru, Miyazaki Hirofumi, Takahashi Yu, Asao Atsuko, Maruyama Takashi, Yoshimura Akihiko, Ishii Naoto, Owada Yuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Fatty acid binding protein 3 controls contact hypersensitivity through regulating skin dermal V 4 + / T cell in a murine model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergy	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） 10.1111/all.14630	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 Kobayashi Shuhei, Tayama Shunichi, Phung Hai The, Kagawa Yoshiteru, Miyazaki Hirofumi, Takahashi Yu, Maruyama Takashi, Ishii Naoto, Owada Yuji	4. 巻 10
2. 論文標題 Fatty acid-binding protein 5 limits ILC2-mediated allergic lung inflammation in a murine asthma model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-020-73935-y	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Shuhei Kobayashi, Yoshiteru Kagawa, Hirohumi Miyazaki, Yuji Owada
2. 発表標題 Fatty acid-binding protein 3 controls contact hypersensitivity through regulating skin dermal V 4+ / T cell development
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・学術集会、第98回日本生理学会大会 合同大会
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
---------	---------