

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791672

研究課題名（和文） 眼特異的ヒト制御性細胞の免疫学的分子生物学的機能解析

研究課題名（英文） The regulatory phenotype in human PE-induced Treg cells

研究代表者

堀江 真太郎 (HORIE SHINTAROU)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40376744

研究成果の概要（和文）：ヒト網膜色素上皮細胞による制御性T細胞の誘導、樹立に関する研究を行った。その結果、すでにマウスの細胞で確認されているのと同様に活性化T細胞に対してのみならず、またB細胞株や単球株などさまざまな炎症細胞に対して公汎かつ強力に細胞増殖抑制能があることがわかった。さらに、ヒト網膜色素上皮細胞から誘導、樹立される制御性T細胞の phenotype 解析をすすめ、CD4陽性CD25陽性のT細胞が強力な細胞増殖抑制ならびに活性化したTh1細胞に対する炎症性サイトカインの分泌抑制を導くこともわかった。

研究成果の概要（英文）：Murine retinal pigment epithelial (RPE) cells suppress T-cell activation by releasing soluble inhibitory factors and promote the generation of regulatory T cells in vitro. In the present study, we showed that human RPE-induced Treg cells are also able to acquire regulatory function when human RPE cell lines were pretreated with recombinant TGFβ2. These RPE-induced Treg cells produced immune suppressive cytokines, and they significantly suppressed the activation of target cell lines and intraocular T-cell clones. Moreover, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> RPE-induced Treg cells expressed CTLA-4 and Foxp3 molecules, and the CD25<sup>+</sup> Treg cells profoundly suppressed the T-cell activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：眼炎症、制御性T細胞、細胞治療、眼色素上皮細胞、活性化T細胞抑制

## 1. 研究開始当初の背景

眼は免疫学的に隔絶された特殊な機構を有しており、immune privilege site として古くから知られている。この機構により眼内環境の恒常性が維持され視機能が保持されて

いる。虹彩、毛様体、網膜の一連の層から構成される眼色素上皮細胞は immune privilege site の機構に関与することが指摘されているが、その詳細な機構、特に分子機構については未だ解明されていない。前眼部に位置す

る虹彩色素上皮細胞 (Iris pigment epithelial cell、以下 IPE) は副刺激分子の一つ、CD86 分子や免疫抑制に重要な分子 TGFb2 を構成的に細胞表面に発現し、その抑制機構に重要な働きを行っている事が報告されている。さらに、房水中など眼内に大量に含まれる TGFb2 やトロンボスポンジン (TSP-1) なども炎症担当細胞抑制能があり、その抑制機構に必要不可欠との報告がある。これらの報告はいずれもマウスの組織、細胞を用いて解析したものでヒトでの報告はほとんどない。

## 2. 研究の目的

近年、我々は、ヒト虹彩色素上皮細胞 (human IPE) の発現する細胞表面 TGFb2 が活性化 T 細胞を細胞接触にて抑制している事を報告した (Horie et al, Exp Eye Res 2009)。本研究の目的は、マウスの眼色素上皮細胞が誘導する調節性 T 細胞 (regulatory T cells) の樹立をヒトの系を用いて応用し、将来、ぶどう膜炎などの眼内炎症の治療に使用できるかどうかを検討する事を目的とする。

## 3. 研究の方法

われわれはヒト網膜色素上皮細胞による制御性 T 細胞の誘導、樹立に関する研究を行った。ARPE19 細胞株の培養上清を使用し、健康人末梢血由来の T 細胞と共生培養することにより制御性 T 細胞の機能が示されるか実験を行った。これらのヒトから樹立した調節性 T 細胞が別の活性化された T 細胞 (特に、ぶどう膜炎眼局所から樹立) を抑制する能力があるかを検討した後、その調節性 T 細胞が特異的に発現あるいは分泌している免疫調節因子を同定する。

## 4. 研究成果

すでにマウスの細胞で確認されているのと同様に活性化 T 細胞に対してのみならず、また B 細胞株や単球株などさまざまな炎症細胞に対して公認かつ強力に細胞増殖抑制能があるこ

とがわかった。さらに、ヒト網膜色素上皮細胞から誘導、樹立される制御性 T 細胞の phenotype 解析をすすめ、CD4 陽性 CD25 陽性の T 細胞が強力な細胞増殖抑制ならびに活性化した Th1 細胞に対する炎症性サイトカインの分泌抑制を導くこともわかった。このようにヒト網膜色素上皮細胞から樹立、誘導される制御性 T 細胞はぶどう膜炎などの眼炎症を制御する可能性を持つと考えられるが、さらに優れた点として、網膜色素上皮の培養上清だけでも誘導できるためアロの細胞の混入を避けることができることである。実際に眼局所では誘導されて自律的に眼炎症を制御していると考えられる制御性 T 細胞ときわめて類似した性質を有すると考えられ、将来的に難治性の疾患への細胞治療につながる成果と考えられる。これらの一定の研究結果について、Human retinal pigment epithelium-induced CD4+CD25+regulatory T cells suppress activation of intraocular effector T cells のタイトルで論文としてまとめ、英文雑誌に投稿し受理された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Horie S, Sugita S et al.  
Human retinal pigment epithelium-induced CD4+CD25+regulatory T cells suppress activation of intraocular effector T cells. *Clinical Immunology* 査読あり 2010 vol. 136 (1) pp. 83-95
- ② Sugita S, Horie S et al. Inhibition of B-Cell Activation by Retinal Pigment Epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 査読あり 2010 vol. 51 (11) pp. 5783-5788
- ③ Sugita S, Horie S et al. Suppression of bystander T helper 1 cells by iris pigment epithelium-inducing regulatory T cells via negative costimulatory signals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 査読あり 2010 vol. 51 (5) pp. 2529-36
- ④ Horie S, Sugita S et al. Human iris pigment epithelium suppresses activation of

bystander T cells via TGFbeta-TGFbeta receptor interaction. Exp Eye Res 査読あり  
2009 vol. 88 (6) pp. 1033-42

⑤ Sugita S, Horie S et al. Acquisition of T regulatory function in cathepsin L-inhibited T cells by eye-derived CTLA-2alpha during inflammatory conditions. J Immunol 査読あり  
2009 vol. 183 (8) pp. 5013-22

⑥ Yamada Y, Sugita S, Horie S et al. Mechanisms of immune suppression for CD8+ T cells by human corneal endothelial cells via membrane-bound TGFbeta. Invest Ophthalmol Vis Sci 査読あり 2010 vol. 51 (5) pp. 2548-57

[学会発表] (計 2 件)

① Horie S, et al. Potential Effects of Toll-Like Receptor 4 Signaling on RPE Dedifferentiation by TGFb. ARVO 2010.5.5 Fort Lauderdale (FL, USA)

② Horie S et al. Human retinal pigment epithelium-induced CD4+CD25+ regulatory T cells suppress activation of intraocular effector T cells. 10th International Ocular Inflammation Society. 2009.5.30 Prague (Czech)

③

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
堀江 真太郎 (HORIE SHINTARO)  
東京医科歯科大学 医学部附属病院 医員  
研究者番号：40376744

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：