

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02959

研究課題名（和文）関節リウマチにおける濾胞性制御性T細胞の機能と疲弊の解明

研究課題名（英文）Mechanisms and exhaustion of T follicular regulatory cells in rheumatoid arthritis

研究代表者

松本 功（Matsumoto, Isao）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：30343081

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：関節リウマチ（RA）ではT細胞が重要とされる。近年RA発症の高齢化が言われ、IL-6上昇が指摘されているが、RAでは制御性T細胞（Treg）の機能低下が報告され、TregのeQTL効果が高い。我々の先行研究で、RAで発症年齢とTreg数が相関し、GIAモデルでは高齢マウスで病態が増悪し、Treg、IL-6増加を伴い、Treg枯渇をさせても関節炎変化が乏しいなど、Treg機能低下が想定された。ヒトTregでのRNAseq、GIAリンパ節でのCD4+ T細胞のscRNAseqを進め、高齢TregでのDEG増加、pathway解析でtype I IFN経路の増強、共刺激分子の変動を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢発症病態・高齢化などから、RAにおいても生命にかかわる重篤な感染症や悪性腫瘍の発現が報告されている。また、休薬は可能なものの、薬剤を中止することが困難な疾患である。未だ病因が不明のRAであるが、より病因の根底を理解し、ターゲットを絞った副作用の少ない薬剤の開発が望まれており、高齢化社会における臨床への貢献度は極めて高いと考える。

研究成果の概要（英文）：T cells are considered to be important in rheumatoid arthritis (RA). In recent years, it has been said that RA is caused by aging, and an increase in IL-6 has been pointed out. However, a decrease in the function of regulatory T cells (Treg) has been reported in RA, and the eQTL effect of Treg is high. In our previous research, we found a correlation between the age of onset of RA and the number of Tregs, and in the GIA model, the pathology worsened in older mice, accompanied by an increase in Tregs and IL-6, and even when Tregs were depleted, there was little arthritis change, so a decrease in Treg function was assumed. We performed RNAseq on human Tregs and scRNAseq on CD4+ T cells in GIA lymph nodes, and found an increase in DEGs in older Tregs, an enhancement of the type I IFN pathway in pathway analysis, and changes in costimulatory molecules.

研究分野：膠原病リウマチアレルギー内科学

キーワード：関節リウマチ 高齢化 制御性T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ (RA) では近年発症の高齢化が指摘されているが、高齢化と制御性 T 細胞の機能に関しては多くの知見はない。自己免疫疾患では Tfh 細胞が増加し、重要であることは明らかであるが、ACPA などの自己抗体炎症惹起能を制御するメカニズムは長らく不明であった。Tfh17 細胞などの機能制御には制御性 Treg や Tfr 細胞が重要であることが言われており、B 細胞での自己抗体制御にも重要であると考えられている。しかしながら加齢に伴う Treg, Tfr の Tfh 細胞への制御機構や自己抗体産生などの詳細なメカニズムは未だ不明である。よって、Treg, Tfr の機能や疲弊が年齢や疾患発症と関連している可能性を考え、ヒト RA 患者及び動物モデルでの加齢との詳細な解析を行う。

2. 研究の目的

高齢発症関節リウマチ病態における制御性 T 細胞の機能低下その疲弊メカニズム

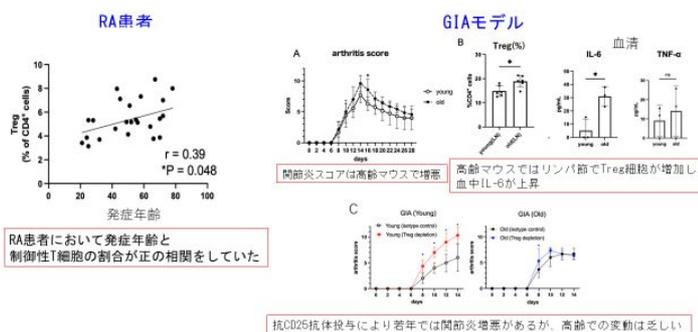
3. 研究の方法

- 1) 未治療 RA 患者の末梢血中の Treg 比率をフローサイトメトリー (FCM) で測定し、Treg の割合と発症年齢・疾患活動性の相関を解析した。
- 2) 若齢・高齢マウスに GIA を誘導し、関節炎スコア、Treg の数の比較、血清中サイトカインの比較を行った。また、Treg depletion を行った上で GIA を誘導し、表現型の差を解析した。
- 3) GIA および naïve の若齢・高齢マウスから Treg をソートし、suppression assay を評価した。
- 4) GIA および control の若齢・高齢マウスの鼠径リンパ節から CD4⁺ T 細胞を分取し、single cell RNA-seq (scRNA-seq) を行い、加えて Treg cluster における発現変動遺伝子 (DEG) を解析した。
- 5) IFN- γ の添加による若齢・高齢 Treg の TCR 刺激に対する反応性の違いを in vitro で評価した。

4. 研究成果

- 1) RA 患者では発症年齢と Treg の割合に有意な正の相関があったが、Treg の割合と疾患活動性に有意な相関は認められなかった (図 1 左)

図1. RA患者、関節炎モデル(GIA)動物におけるTreg細胞と年齢(Preliminary data)



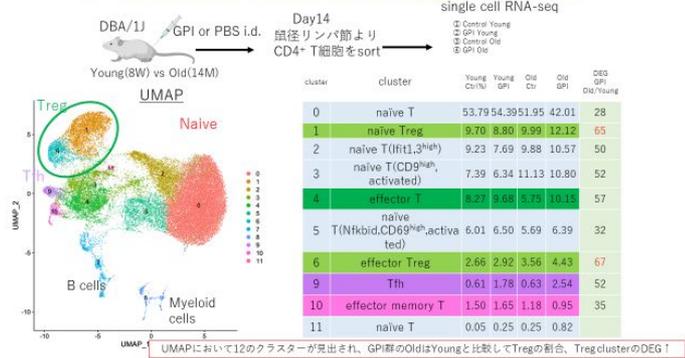
- 2) 関節炎極期において、高齢群で関節炎スコアが有意に高く (図 1 右 A)、高齢群ではリンパ節 (LN) 中の Treg の割合が有意に高く、血中 IL-6 の増加が認められた (図 1 右 B)

Treg depletion により若齢マウスで著明な関節炎悪化が見られたのに対し、高齢マウスでは変化が乏しかった (図 1 右下)

- 3) 高齢 Treg は naïve では高い抑制能を示したが、GIA 環境下では逆に抑制能が低い値を示した。

4) 図2にGIAリンパ節のCD4+T細胞のscRNAseqデータを示す。リンパ節内T細胞で、Tregクラスター (Fraction 1,6), Tfhクラスター (Fraction 9) もはっきり分布されており、ヒトRAと同様に高齢でTreg細胞の増加、及びDEGの増加が認められている。

図2 GIAにおけるCD4+ T細胞のscRNA-seq (preliminary data)



特に高齢マウスではTregにおいて、Type IFN signalが亢進していた。

5) 高齢Tregは若齢と比較してIFN-投与下での活性に変化を認めた。

これらのことより、関節炎環境において、高齢Tregは増殖抑制能が低下し、Type IFNに対する反応性が若齢と異なることにより、機能不全に陥る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 3.Furuyama K, Kondo Y, Kaneko S, Shimizu M, Tanimura R, Tsuboi H, Sumida T, Matsumoto I. | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Effector Th17-like regulatory T cells associate with the pathogenesis of rheumatoid arthritis. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Rheumatology | 6. 最初と最後の頁 e4-e6 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 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.Yagishita M, Tsuboi H, Kuroda Y, Sawabe T, Kawashima A, Kawashima F, Uematsu N, Sato R, Nishiyama T, Terasaki M, Toko H, Honda F, Ohyama A, Abe S, Kitada A, Miki H, Hagiwara S, Kondo Y, Sumida T, Matsumoto I. | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Clinical features and serum cytokine profiles of elderly-onset adult-onset Still's disease. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Sci Rep | 6. 最初と最後の頁 21334 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 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 1.Hagiwara S, Tsuboi H, Kuroda Y, Sawabe T, Uematsu N, Kawashima F, Sugita T, Terasaki M, Honda F, Yagishita M, Kondo Y, Sumida T, Matsumoto I | 4. 巻 in press |
| 2. 論文標題 Comparative analysis of low-field magnetic resonance imaging in patients with rheumatoid arthritis treated with certolizumab pegol or infliximab. | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Mod Rheumatol. | 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） なし | 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 Osada A, Matsumoto I, Mikami N, Ohyama A, Kurata I, Kondo Y, Tsuboi H, Ishigami A, Sano Y, Arai T, Ise N, Sumida T. | 4. 巻 203 |
| 2. 論文標題 Citrullinated inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 in arthritic joints and its potential effect in the neutrophil migration. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Clin Exp Immunol, | 6. 最初と最後の頁 385-399 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cei.13556 | 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 Ohyama A, Osada A, Kawaguchi H, Kurata I, Nishiyama T, Iwai T, Kondo Y, Tsuboi H, Sumida T, Matsumoto I | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Specific increase in joint neutrophil extracellular traps and its relation to interleukin 6 in autoimmune arthritis. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Int J Mol Sci | 6. 最初と最後の頁 7633 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22147633 | 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 Honda F, Tsuboi H, Ono Y, Abe S, Takahashi H, Ito K, Yamada K, Kawano M, Kondo Y, Asano K, Tanaka M, Malissen M, Malissen B, Matsumoto I, Sumida T. | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Pathogenic roles and therapeutic potential of the CCL8-CCR8 axis in a murine model of IgG4-related sialadenitis. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Arthritis Res Ther | 6. 最初と最後の頁 214 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-021-02597-6 | 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 Kurata I, Mikami N, Ohyama A, Osada A, Kondo Y, Tsuboi H, Sumida T, Matsumoto I | 4. 巻 206 |
| 2. 論文標題 Impaired function of PD-1+ follicular regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Clin Exp Immunol | 6. 最初と最後の頁 28-35 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cei.13643 | 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5件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 松本功 |
| 2. 発表標題 関節リウマチにおけるシトルリン化蛋白とその自己抗体の意義再考 |
| 3. 学会等名 日本骨免疫学会 シンポジウム (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Isao Matsumoto |
| 2. 発表標題 Pathogenic insights of citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. |
| 3. 学会等名 APLAR Mid-term Symposium, State-of-the-art in rheumatology advances (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Isao Matsumoto |
| 2. 発表標題 Mechanistic insight of impaired function of PD-1+ follicular regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. |
| 3. 学会等名 The 50th Annual meeting of The Japanese Society for immunology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Isao Matsumoto |
| 2. 発表標題 Reconsidering IL-6 receptor inhibition in autoimmune arthritis. |
| 3. 学会等名 27th International symposium on MNCB (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Isao Matsumoto |
| 2. 発表標題 Recent topics of pathogenesis and therapy in rheumatoid arthritis. |
| 3. 学会等名 23rd Asia-pasific League of Association for rheumatology congress (APLAR2021) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

| | | |
|---------------------------|-----------------|---------------|
| 産業財産権の名称 関節リウマチ診断薬 | 発明者 松本功、住田孝之 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、7202010 | 取得年 2022年 | 国内・外国の別 国内 |

〔その他〕

| |
|--|
| 筑波大学 膠原病リウマチアレルギー内科学 https://tsukuba-rheumatology.jp/ 筑波大学 膠原病リウマチアレルギー内科学 https://tsukuba-rheumatology.jp/ |
|--|

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 分担者 | 渋谷 和子 (Shibuya Kazuko) (00302406) | 筑波大学・医学医療系・教授 (12102) | |

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 |
|---------|---------|