

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07065

研究課題名(和文) 胸腺における3型自然リンパ球の抗原提示細胞としての役割の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the Role of Type 3 Innate Lymphoid Cells in the Thymus

研究代表者

山野 友義 (Yamano, Tomoyoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：40724183

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)：胸腺に存在する抗原提示細胞はT細胞中枢性寛容に必須の役割を持つ。これまでの研究で胸腺上皮細胞、胸腺樹状細胞、胸腺B細胞の役割については詳細な研究がされているが、3型自然リンパ球の中枢性寛容における寄与はわかっていない。本研究では3型自然リンパ球の一部にMHCIIとAireの発現がある分画が存在し、その細胞は抗原提示能を持つことがわかった。これらの結果よりAire陽性3型自然リンパ球は胸腺においても自己抗原を提示し、自己反応性T細胞の除去、および制御性T細胞分化に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫疾患は近年先進国で増加し続けているにもかかわらず、その原因の多くは未知であり根本的な治療法は確立されていない。また、花粉症や食物アレルギーといったアレルギー性疾患は広義では自己免疫疾患に含まれ、Quality Of Life(QOL)を著しく低下させるが、これに対する根本的な治療法も確立されていない。胸腺におけるT細胞分化の研究は上記課題を解決するためには不可欠な基礎研究である。本研究の成果は複雑なT細胞寛容メカニズムを解明する一助となり、これらの知見の積み重ねにより、将来的には自己免疫疾患の治療法の開発に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Antigen-presenting cells in the thymus play an essential role in central T cell tolerance. Previous studies have detailed the roles of thymic epithelial cells, thymic dendritic cells, and thymic B cells, but the contribution of type 3 innate lymphoid cells to central tolerance is not well understood. In this study, a subset of type 3 innate lymphoid cells was found to express MHCII and Aire, and these cells possess antigen-presenting capabilities. These results suggest that Aire-positive type 3 innate lymphoid cells present self-antigens in the thymus and are involved in the elimination of autoreactive T cells and the differentiation of regulatory T cells

研究分野：免疫学

キーワード：中枢性寛容 Aire 3型自然リンパ球

1. 研究開始当初の背景

胸腺には抗原提示細胞として胸腺髄質上皮細胞、樹状細胞、B細胞が存在することが知られており、これら抗原提示細胞は自己に対する免疫寛容誘導に必須であることが知られている。特に胸腺髄質上皮細胞は非常にユニークな細胞で組織特異的抗原、例えば膵島特異的抗原であるインスリンや脳特異的抗原であるプロテオリピドタンパク質(PLP)等を発現する(図1)。これら組織特異的遺伝子発現を調整する遺伝子としてAireが同定され、Aire遺伝子の変異は組織特異的抗原の発現低下をもたらし、その結果、自己免疫疾患を引き起こすことが示された(Anderson et al., *Science*. 2002)。Aire遺伝子は胸腺髄質上皮細胞だけが発現すると考えられてきたが、最近、申請者は胸腺B細胞および末梢リンパ組織の3型自然リンパ球様細胞にもAireの発現があることを発見し、それぞれ中枢性免疫寛容および末梢性寛容を誘導することを報告した(Yamano et al., *Immunity*. 2015, Yamano et al., *J Exp Med*. 2019)。

	樹状細胞	胸腺髄質上皮細胞			
	SAP	-	+	Aire依存的	
	CRP	-	+		
	Complement C5	+	+		
	α-Fetoprotein	-	+		
	Albumin	-	+	Aire依存的	
	Haptoglobin	-	+	Aire依存的	
	α1-Antitrypsin	-	+	Aire依存的	
	PLP	-/+	+	Aire依存的	
		MOG	-	+	Aire依存的
		S100β	+	+	Aire依存的
	GAD67 ^c	-	+		
	GAD65 ^c	-	+	Aire依存的	
	Somatostatin	-/+	+	Aire依存的	
	Trypsin2	-	+	Aire依存的	
	Elastase	-/+	+	Aire依存的	
	Insulin ^c	-	+	Aire依存的	
	α1-Crystallin	+	+	Aire依存的	
	Retinal S-antigen	-	+	Aire依存的	
	IRBP	-	+	Aire依存的	

図1. 胸腺髄質上皮細胞は組織特異的抗原を発現する

多くの自己免疫疾患では根本的な治療法が確立していないため、その原因となりうるT細胞寛容誘導メカニズムの解明は自己免疫疾患の根本的な治療法確立に繋がる可能性がある。

2. 研究の目的

AireはAPECED(自己免疫性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉性ジストロフィー)の原因遺伝子として同定され、Aire遺伝子の変異は多臓器における自己免疫疾患を引き起こす。一方でAPECED患者はカンジダ症、外胚葉性ジストロフィーといった胸腺髄質上皮細胞における組織特異的抗原の欠損だけでは説明できない疾患も発症する。近年、APECED患者では抗IL-17抗体及び抗IL-22抗体といったTh17サイトカインに対する自己抗体が産生され、これらの自己抗体がTh17細胞を抑制することによりカンジダ症が発症する可能性が示された(Kisand et al., *J Exp Med*. 2010)。しかし、何故Aireの欠損がTh17サイトカインに対する自己抗体を生じさせるのかは不明である。筆者はこれまでに2次リンパ組織において3型自然リンパ球様の細胞にAireの発現があることを発見した(Yamano et al., *J Exp Med*. 2019)。3型自然リンパ球はTh17サイトカインを発現することが知られているので、3型自然リンパ球がTh17サイトカインに対する免疫寛容を誘導する可能性がある。これまで3型自然リンパ球は胸腺髄質上皮細胞の成熟を促すということは知られているが、T細胞分化に直接関与するとは考えられていない。本研究の目的はこれまでに胸腺での機能がわかっていない3型自然リンパ球に焦点をあて、T細胞分化における3型自然リンパ球の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1. Aire を発現する胸腺 3 型自然リンパ球の特性を解析する

胸腺 3 型自然リンパ球の特徴を解析するために、Aire レポーターマウスと 3 型自然リンパ球のマーカーである RORrt のレポーターマウスを掛け合わせたマウスを用いて、胸腺 3 型自然リンパ球の表現型を解析する。

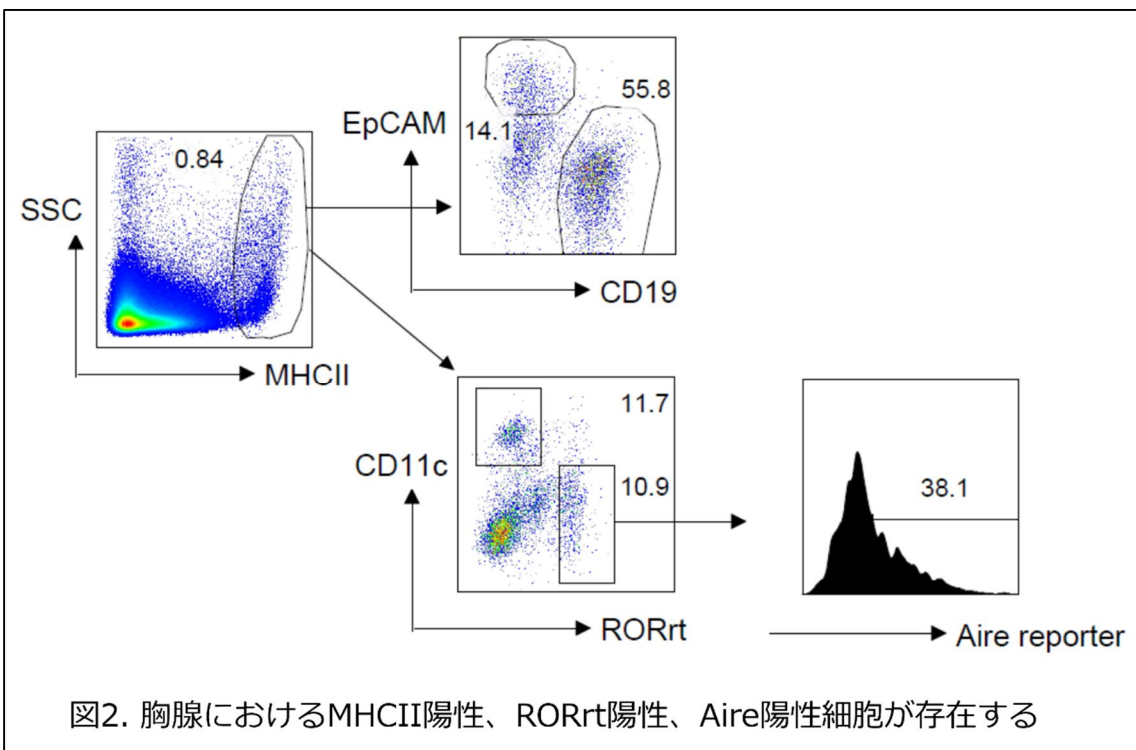
2. 胸腺 3 型自然リンパ球が T 細胞分化に与える影響を評価

Aire のプロモーターで HA を発現するマウスを用いて Aire を発現する胸腺 3 型自然リンパ球が抗原提示能を持つことができるかどうかを検証する。

4. 研究成果

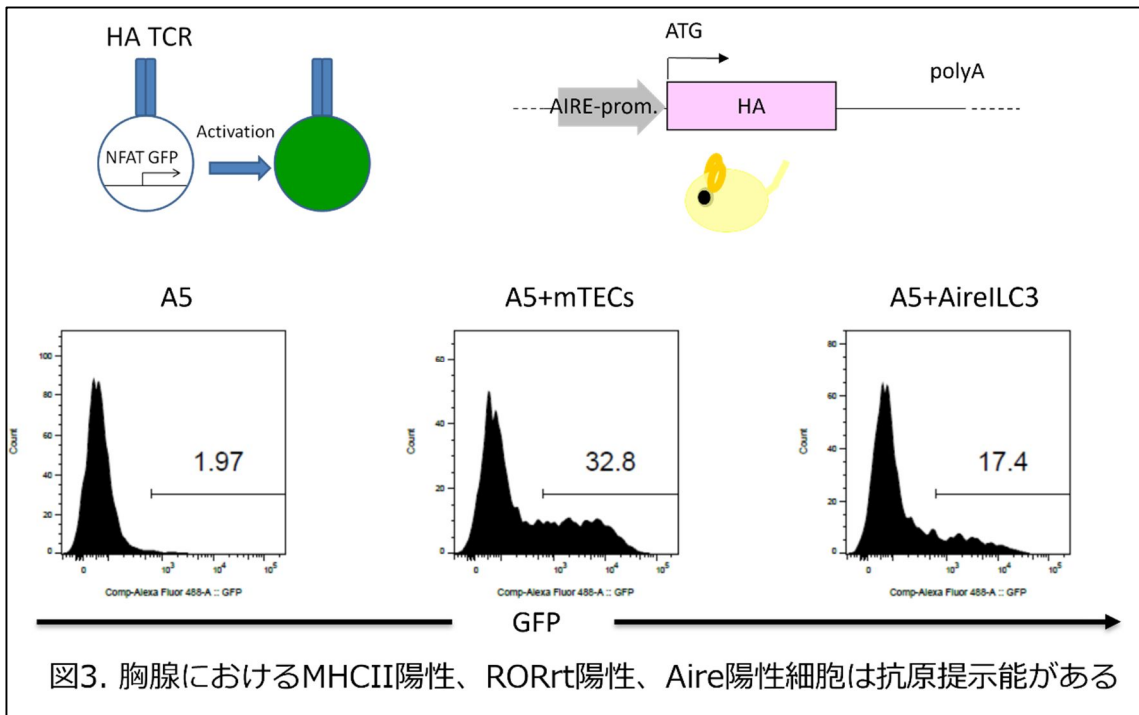
1.

Aire レポーターマウスと 3 型自然リンパ球のマーカーである RORrt のレポーターマウスを掛け合わせたマウスの解析を行った。5 週齢のマウスの胸腺をリベラーゼ酵素処理後、細胞懸濁液をフローサイトメトリーで解析した。その結果、樹状細胞とほぼ同数の MHCII 陽性、RORrt 陽性細胞の存在を確認した。またその分画のおよそ 3 割は Aire レポーターの発現が見られた。これらの結果より、以前我々がリンパ節および脾臓で発見した Aire を発現する 3 型自然リンパ球様の細胞は胸腺においても存在することがわかった(図 2)。



2.

Aire のプロモーターで HA を発現するマウスを用いて Aire を発現するマウスから Aire を発現する 3 型自然リンパ球様細胞をソーティングし、HA-TCR を発現する HA-TCR ハイブリドーマ細胞と共培養を行った。HA-TCR ハイブリドーマ細胞は NFAT-GFP レポーターの発現があるため、TCR の刺激を GFP の発現で確認できる。その結果、胸腺髄質上皮細胞(mTEC)と比べると若干弱い、Aire を発現する 3 型自然リンパ球様細胞は抗原特異的ハイブリドーマ細胞に抗原提示することができた(図 3)。これらの結果より、胸腺において 3 型自然リンパ球様細胞は自己抗原を提示する能力があることが示された。すなわち胸腺において中枢性寛容に寄与する可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 0件）

1. 著者名 Keesiang Lim, Goro Nishide, Elma Sakinatus Sajidah, Tomoyoshi Yamano, Yujia Qiu, Takeshi Yoshida, Akiko Kobayashi, Masaharu Hazawa, Toshio Ando, Rikinari Hanayama, Richard W Wong	4. 巻 23
2. 論文標題 Nanoscopic Assessment of Anti-SARS-CoV-2 Spike Neutralizing Antibody Using High-Speed AFM.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nano letters	6. 最初と最後の頁 619-628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.2c04270	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 Elma Sakinatus Sajidah, Keesiang Lim, Tomoyoshi Yamano, Goro Nishide, Yujia Qiu, Takeshi Yoshida, Hanbo Wang, Akiko Kobayashi, Masaharu Hazawa, Firli R P Dewi, Rikinari Hanayama, Toshio Ando, Richard W Wong	4. 巻 11
2. 論文標題 Spatiotemporal tracking of small extracellular vesicle nanotopology in response to physicochemical stresses revealed by HS-AFM.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of extracellular vesicles	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) 10.1002/jev2.12275	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 Xiabing Lyu, Shota Imai, Tomoyoshi Yamano, Rikinari Hanayama	4. 巻 40
2. 論文標題 Preventing SARS-CoV-2 Infection Using Anti-spike Nanobody-IFN- Conjugated Exosomes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutical research	6. 最初と最後の頁 927-935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11095-022-03400-0	査読の有無 無
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0件

〔図書〕 計2件

1. 著者名 山野友義	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 207
3. 書名 実験医学増刊 T細胞分化および機能制御における細胞外小胞の役割	

1. 著者名 山野友義, 華山力成	4. 発行年 2022年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 114
3. 書名 T細胞末梢性寛容および末梢でのAireの役割	

〔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
---------	---------