

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15473

研究課題名(和文)アルツハイマー病の早期アミロイド病理において脳内浸潤T細胞の果たす役割の解明

研究課題名(英文)Pathological roles of brain-infiltrating T cells at an early stage of Alzheimer's disease

研究代表者

大谷木 正貴(Ohyagi, Masaki)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：70882497

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文):アルツハイマー病患者脳ではアミロイド(A $\beta$ )やリン酸化タウの異常凝集が特徴的な病理変化であるが、病変部位には活性化したグリア細胞に加えて種々のT細胞の浸潤が認められる。本研究では、脳内A $\beta$ 凝集モデルマウスを用いた病理学的解析により、T細胞、特にCD8陽性T細胞がアミロイド病理の早期には促進的に作用し、加齢に伴うA $\beta$ 凝集の進行とともにアミロイド病理に抑制的に働くことを明らかにした。シングルセルRNA-seq解析により、脳内CD8陽性T細胞はサイトカインシグナルを介して疾患特異的ミクログリアの活性化を修飾することでアミロイド病理を変化させ、この反応は抗原特異的であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、AD患者脳や脳脊髄液中でオリゴクローナルに増殖するCD8陽性T細胞が着目されているが、その病理学的意義についてはアミロイド病理に促進的あるいは抑制的いずれの報告もあり定まっていない。本研究により、アミロイド病態の病期に応じて脳浸潤CD8陽性T細胞は多様な作用を発揮し、アミロイド病理の進行に関与していることが明らかとなった。今後CD8陽性T細胞の機能修飾によるADの疾患修飾治療を検討する際には、患者の病期に応じた個別化治療戦略が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文):Growing evidence has suggested a critical role for neuroinflammation and immune dysfunction in Alzheimer's disease (AD). In addition to microglia, the innate immune cells in the brain, adaptive immune cells also face phenotypic alternation on AD progression. In this study using a mouse model of AD, we demonstrated that clonally expanded CD8 T cells exhibit protective functions at an early stage of amyloid pathology; however, they inhibit amyloid plaque accumulation in the late phase of AD progression. Single-cell transcriptomic analysis revealed that brain CD8 T cells modify disease-associated microglia phenotypes through chemokine-signaling pathways, and impact amyloid pathology dependent on T cell receptor clonotypes.

研究分野：神経免疫

キーワード：神経免疫 神経炎症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化に伴いわが国の認知症患者数は急増しており、厚生労働省の推計によると、2026年には65歳以上の5人に1人が認知症に罹患すると推定されている。特にアルツハイマー病(AD)は、認知症患者の半数以上を占め、その治療法・予防法の確立は喫緊の課題である。ADの病理学的特徴は、脳内の神経細胞外にアミロイドペプチド(A $\beta$ )が凝集・沈着した老人斑と微小管結合タンパクの一つであるtauタンパクがリン酸化されることにより細胞質内で線維化・凝集した神経原線維変化である。病理学的時系列から、AD患者の大脳皮質では発症の数十年前からA $\beta$ の蓄積が始まっており、A $\beta$ の蓄積を契機としてタウの蓄積、次いで神経変性・神経細胞死へと至るアミロイドカスケード仮説が支持されている。一方、ADに関連する遺伝子バリエーションとして脳常在マクロファージであるミクログリアに発現してA $\beta$ の貪食や除去に関与する分子の関与が報告され、組織学的にも変性した神経細胞の周囲に活性化したミクログリアやアストロサイトが集簇していることから、ミクログリアを中心とした自然免疫系の神経炎症への関与が注目されている。他方、AD患者脳の病変部位には種々のT細胞の浸潤も認められ、AD患者の脳内または脳脊髄液中でCD8陽性T細胞のオリゴクローナルな増殖が報告されたが、その病理学的役割についてはアミロイド病理に促進的あるいは抑制的いずれの報告もあり、未だ明らかになっていない。我々は蓄積したA $\beta$ に対する炎症性反応としてのT細胞の集積ではなく、アミロイド病態の経過に応じてT細胞が積極的な役割を担っていると考え、アミロイド病理の早期段階に着目して本研究を遂行した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、神経変性疾患の中で患者数が最多であるADの病態におけるT細胞の意義を解明することにある。これまでADにおけるT細胞の研究は、APP過剰発現モデル動物におけるT細胞の欠損、あるいは抗体によるT細胞除去により生じるA $\beta$ 蓄積の増減やグリア細胞の数的ないし形態変化といった現象の記載にとどまっている。凝集したA $\beta$ に対するT細胞の応答だけでなく、アミロイド病理にT細胞が積極的に関与する分子機構を解析することを目的とし、本研究で得られた知見は脳内の異常タンパク凝集を主な病理とする他の神経変性疾患の病態解明への応用が期待できる。さらにはT細胞の機能修飾によりAD病態の疾患修飾治療戦略の確立も視野に入れている。

### 3. 研究の方法

AD患者で認められるAPP変異をノックイン(KI)したAPP-KIマウスと、T細胞を特異的に欠損したCD3eKOマウス、または薬剤誘導性にCD8陽性細胞を除去するCD8DTAマウスを交配し、T細胞が脳内A $\beta$ 凝集に及ぼす影響を免疫組織化学や生化学的に解析した。脳内免疫細胞の解析は免疫組織化学とフローサイトメトリー法を用いて行い、フローサイトメトリー法による細胞分取後にシングルセルRNA-seqとT細胞受容体レパトア解析を行った。同定したAPP-KIマウスに特徴的なT細胞受容体レパトアをクローニング後、レトロウイルスを用いてCD8陽性T細胞へ遺伝子導入あるいはT細胞ハイブリドーマに導入し、T細胞特異的欠損マウスへの移入後の脳内A $\beta$ 凝集を免疫組織化学により評価した。

### 4. 研究成果

APP-KIマウス脳では加齢に伴う脳内A $\beta$ 蓄積の増加とともにT細胞の脳内浸潤が増加しており、とくにCD8陽性T細胞の浸潤がA $\beta$ 凝集の増加と相関を示した。一方、T細胞欠損APP-KIマウス脳では、3ヶ月齢のアミロイド病理早期段階においてA $\beta$ 凝集の減少を認めるものの、9ヶ月以降はA $\beta$ 蓄積が増加しており、アミロイド病理の病期に応じて脳浸潤T細胞が多様な機能を発揮していることが示唆された。APP-KIマウスにおいて抗体または薬剤誘発性にCD4陽性T細胞とCD8陽性T細胞を除去したところ、CD8陽性T細胞がA $\beta$ 凝集の早期段階に関与していた。APP-KIマウスとT細胞欠損APP-KIマウス、野生型マウス各々の脳内免疫細胞のシングルセルRNA-seqを行い、APP-KIマウス脳内のCD8陽性T細胞では特徴的な遺伝子発現プロファイルが明らかとなり、T細胞欠損APP-KIマウス脳では疾患関連ミクログリア特有の遺伝子発現に変化が生じていた。細胞間相互作用解析により、脳CD8陽性T細胞は主にケモカインを介して定常状態ミクログリアから疾患関連ミクログリアへと相互作用を發揮していることが示唆され、標的分子の阻害実験により脳内A $\beta$ 凝集が変化することを確認した。T細胞受容体レパトア解析からはAPP-KIマウス脳内のCD8陽性T細胞はオリゴクローナルな増殖を示し、同定したAPP-KIマウス脳に特徴的なT細胞受容体レパトアはCD8陽性T細胞が脳内A $\beta$ 凝集を変化させるのに必要であることが判明した。上記より、APP-KIマウス脳浸潤CD8陽性T細胞は抗原特異的な作用により疾患関連ミクログリアの誘導を介してアミロイド病理の初期段階に積極的に関与していることが明らかとなった。本研究結果と既報からアミロイド病理が進行した際には脳CD8陽性T細胞はアミロイド病理に抑制的に作用しており、今後CD8陽性T細胞の機能修飾を介したAD疾患修飾治療の確立を検討する際には、アミロイド病理の進行段階に応じたCD8陽性T細胞の役割

を考慮した機能修飾と治療戦略が必要になると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Akihiko Yoshimura, Masaki Ohyagi, Minako Ito	4. 巻 157
2. 論文標題 T cells in the brain inflammation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Advances in Immunology	6. 最初と最後の頁 29-58
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.ai.2022.10.001.	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Masaki Ohyagi
2. 発表標題 Peripheral Lipopolysaccharides Challenge Aggravates $\beta$ -amyloid Pathology in App knock-in Mouse Model
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masaki Ohyagi, Minako Ito, Akihiko Yoshimura
2. 発表標題 Clonally expanded CD8+ T cells in early phase of $\beta$ -amyloid pathology in Alzheimer's disease model mouse
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022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
---------	---------