

令和元年6月18日現在

機関番号：13401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06717

研究課題名(和文) 誘導型新規制御性CD8aa T細胞の分化制御機構、及び免疫反応制御機構の解析

研究課題名(英文) Investigation of the differentiation and immunoregulatory mechanisms of newly identified inducible CD8aa T cells

研究代表者

南部 由希子(Nambu, Yukiko)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：70580380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は免疫反応に伴いCD4T細胞がCD8aaT細胞に分化することを初めて見いだした。この細胞分化は、誘導型制御性CD4T細胞(iTreg)と同じ刺激で誘導されることなどから、iTregとは別の機構で免疫を抑制する未知の制御性T細胞である可能性が示唆された。本研究では、CD4T細胞から誘導されたCD8aaT細胞の分化制御機構および、免疫反応制御機構の解明を目指した。CD4T細胞から誘導されたCD8aaT細胞と、各種T細胞の遺伝子発現解析を行い、誘導型CD8aa T細胞で特徴的に発現する遺伝子群を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で着目した、CD4 T細胞由来CD8aa T細胞は、各種自己免疫疾患や免疫不全に関与している可能性を我々は既に示している。また、CD8aa T細胞による免疫制御機構は、制御性CD4 T細胞と違ったものであることも我々の以前のデータから示唆されている。この細胞がどのように分化し、免疫反応を制御するかを理解することによって、今までに知られていない新しい免疫反応制御機構の分子的・知的基盤を提供できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We found that CD4T cells differentiated into CD8aa T cells during the course of immune response. Since both CD8aa T cells and regulatory T cells were induced by the same factors, it was suggested that CD8aa T cells have the function of immune suppression.

In this study, I tried to clarify the molecular mechanisms of differentiation and immunoregulatory function of CD4-derived CD8aa T cells. To identify the molecular mechanism of differentiation, I analyzed and compared gene expression profiles among CD8aa T cells, derived from CD4 T cells, and the other T cell populations. And finally I identified several specific genes augmented in CD4-derived CD8aa T cells.

研究分野：分子生物学

キーワード：制御性T細胞 CD4 T細胞 CD8aa T細胞

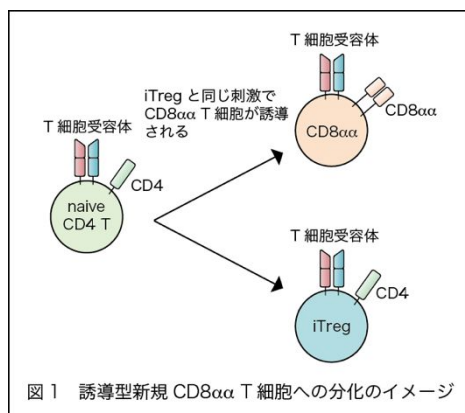
1. 研究開始当初の背景

獲得免疫反応は抗原特異性を持った免疫応答である。獲得免疫応答が正しく機能するための基盤として、一度経験した外敵に次回効率よく応答するために免疫記憶や、自己抗原と認識したものを攻撃しない自己寛容の誘導など、抗原特異的な反応性決定機構があげられる。

転写因子 Foxp3 に依存した制御性 T 細胞 (CD4+/CD25+ T 細胞) は、免疫抑制作用によって自己寛容性に寄与している。この制御性 T 細胞による免疫抑制は、免疫反応全体の強さを規定するタイプの免疫抑制であり、抗原特異的な免疫担当細胞に対する特異的抑制作用や、免疫反応の収束に向ける特異的な機能は見出されていない。これらの機能を所持した、免疫抑制細胞の存在は想定されているが、その実態は未だ不明である。その一方で、活性化 T 細胞特異的に免疫抑制作用を持つ CD8 T 細胞 (CD8 $\alpha\alpha$ 及び CD8 $\alpha\beta$ T 細胞) の存在が明らかになってきた (Kim HJ. et al., Nature 467:328-333, 2010, Kumar V., Trends in Immunol 29:337-342, 2008)。しかし、これらの抗原特異的な免疫抑制機能を持った制御性 CD8 T 細胞の、分化に必要な因子や免疫制御機構の詳細は明らかになっていない。

申請者は、免疫反応に伴い CD4 T 細胞が CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞へ分化することを発見した。この細胞分化は制御性 CD4 T 細胞 (iTreg) と同じ刺激で誘導されることから、iTreg とは別の機構で免疫を抑制する未知の制御性 T 細胞である可能性が示唆された。さらに、CD4 T 細胞から CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞への再分化が起こらない Runx3 欠損マウスでは、発症した実験的自己免疫性脳脊髄炎からの回復に障害を持つことを見いだした (Nambu Y. et al., Sci. Rep. 2:642-652, 2012)。

CD4 T 細胞由来の CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞は CD4 T 細胞から直接 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞へ分化することにより、他の CD4 T 細胞の補助無しに、元の CD4 T 細胞と同じ T 細胞受容体を持つ活性化 CD8 T 細胞人分化する。さらに、免疫反応の時間経過とともに、異なる抗原受容体を持つ CD4 T 細胞が順次活性化され CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞へと分化するという申請者の発見から、CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞が抗原特異性に応じた免疫制御機構に関与していることが示唆された。



2. 研究の目的

免疫システムにおいて、外敵を適切に攻撃し、自己を攻撃しないように適切に制御する必要がある。しかし、自己・非自己を決定する明確な境界は存在しておらず、抗原特異性に依存しない免疫反応の開始・抑制の決定のみで様々な局面に対応することは難しい。例えば、複数の抗原に対する免疫反応が同時に起こっている際に、抗原ごとに免疫反応を持続するのか収束に向かわせるのか決定する必要がある。しかし、制御性 CD4 T 細胞では免疫反応全体の強さを規定するタイプの免疫抑制のため、抗原特異性に応じた免疫反応制御ではない。

申請者が発見した新規誘導型 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞は、慢性化した炎症反応・免疫反応の収束に重要であると考えられる。細胞障害性 CD8 T 細胞は標的細胞上の特定の抗原を認識し、標的細胞の細胞死を誘導する。この性質を考えると、CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞は、特異的な抗原受容体発現細胞や、各種ヘルパー T 細胞特異的な抗原を認識することにより、免疫反応を抗原受容体特異的・機能的に制御している可能性も考えられる。本研究では、誘導型新規 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の分化機構を明らかにし、各種自己疾患病態モデルにおける役割を調べることを目的とする。

3. 研究の方法

新規誘導型 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の分化機構を明らかにし、各種自己疾患病態モデルにおける役割を調べるために下記の実験を行なう。

- (1) CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の遺伝子発現を解析する
Naïve CD4 T 細胞から CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞を *in vitro* で誘導し、CD8 α + / CD8 β - / CD4- T 細胞を単離する。単離した細胞から RNA を調製し、マイクロアレイを行う。その他、naïve CD4 T 細胞や、各種 T 細胞も同様に遺伝子発現を調べ、誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の遺伝子発現と比較する。
- (2) CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の自己免疫疾患モデルマウスにおける機能を検証する
Naïve CD4 T 細胞から誘導した CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞を各種疾患モデルマウスに移植して、その影響を調べる。
多発性硬化症のモデルマウスとして、CD4 T 細胞が認識する自己抗原 MOG を免疫することにより誘導される、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の系を使用する。
全身性エリテマトーデス (SLE) のモデルマウスとして、ミネラルオイル (プリステン:Pristane) を腹腔投与し SLE 様症状を誘導させたマウスを用いる。

4. 研究成果

- (1) CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の遺伝子発現を解析した
CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞と、naïve CD4 T 細胞・CD8 $\alpha\beta$ T 細胞・iTreg の遺伝子発現プロファイルを比較し、誘導型 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞で特徴的に発現する遺伝子を同定した。これらの遺伝子群が、CD4 T 細胞から CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞への分化機構に関わっている可能性が示唆された。今後、これらの遺伝子群がどのように誘導型 CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の分化に関わっているか解析する予定である。
- (2) CD4 T 細胞から誘導された CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞の自己免疫疾患モデルマウスにおける機能を検証した
実験的自己免疫性脳脊髄炎や全身性エリテマトーデスのモデルマウスに、*in vitro* で naïve CD4 T 細胞から誘導した CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞を移植して、免疫反応を抑制するか否かを検証したが安定した結果が得られなかった。
CD4 T 細胞から誘導した CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞による免疫抑制は、制御性 CD4 T 細胞のようにサイトカインの分泌等によって免疫反応全般を抑制するタイプの反応ではないことが示唆された。細胞障害性 CD8 T 細胞の機能を考えると、CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞は抗原特異的な免疫抑制作用を持っているため色々な T 細胞受容体が混じってしまう系では実験結果が安定しない可能性がある。そのため、特異的 T 細胞受容体を持った CD8 $\alpha\alpha$ T 細胞を調製し実験を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- (1) Immune responses against Lewis Y tumor-associated carbohydrate antigen displayed densely on self-assembling nanocarriers.
Yamazaki Y, Nambu Y, Ohmae M, Sugai M, Kimura S
Organic & biomolecular chemistry 16(43) 8095-8105 2018 年 11 月, 査読あり
DOI:10.1039/C8OB01955J

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。