

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16280

研究課題名(和文) ストレスがレニンによるTH17細胞の活性化を介して腸管炎症を惹起する機構の解明

研究課題名(英文) Stress-induced renin causes intestinal inflammation via helper T cells

研究代表者

榛葉 旭恒 (Shimba, Akihiro)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：30812242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： 血圧を制御するプロレニンは細胞膜上に存在するプロレニン受容体に結合する。プロレニン受容体は、免疫細胞系にも広く発現するが、そのシグナル伝達や機能については不明である。ストレスはレニンを介してリンパ球の機能を制御すると考え、リンパ球特異的なプロレニン受容体欠損マウスを解析した。

その結果、プロレニン受容体欠損マウスでは様々なリンパ球の数が著減することや、レニンにシグナルによってTh1細胞やTh17細胞が増加することを見出した。以上から、炎症性腸疾患を増悪する細胞集団の発生を促進する可能性があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血圧を調整するレニンは細胞膜上に存在するプロレニン受容体に結合するが、受容体を発現する免疫細胞にどのような機能があるか、またシグナルを伝達し得るかこれまで不明であった。本研究から、レニンがアンジオテンシン経路を活性化するだけでなく、リンパ球の恒常性維持に寄与し、1型免疫応答や17型免疫応答を制御することで、癌やウイルスの排除に効果を持つ一方で炎症性腸疾患の誘導に関わる可能性を見出した。これ結果から、血圧調整と免疫系が同時に制御される機構を発見することが期待され、高血圧と同時に起こり得る炎症性疾患発症の理解と治療に貢献する。

研究成果の概要(英文)： Renin, which controls blood pressure, binds to (pro)renin receptor (PRR). Although hematopoietic cells express PRR, the function of PRR remain unclear. To address this question, we analyzed lymphocyte-specific PRR-deleted mice.

We found that T, B, and innate lymphoid cells were significantly reduced in PRR deficient mice. Furthermore, pro-renin enhanced helper T cell differentiation in vitro. Taken together, these results suggest a possibility that the signals of pro-renin receptor promote the development and maintenance of lymphocyte subsets to cause intestinal inflammation.

研究分野：免疫学

キーワード：レニン ヘルパーT細胞 炎症性腸疾患

1. 研究開始当初の背景

現代人が晒される過剰な精神的ストレスは、腸管の自律神経失調や腹痛、慢性炎症発症の大きな要因となる。ストレスにより体内で様々な液性因子の分泌が指令され、液性因子が免疫細胞の活性化を促すことで、炎症性腸疾患の発症を誘引すると考えられるが、その詳細な分子機構は未だ不明である。慢性的な炎症の増悪には、寿命が長いヘルパーT細胞サブセットが大きな寄与をもつと考えられる。特に、インターフェロンを産生する1型ヘルパーT細胞(Th1細胞)や、インターロイキン17を産生するヘルパーT細胞(Th17細胞)は炎症性マクロファージや好中球の活性化を介して、病態悪化に寄与する。しかし、精神的ストレスがこれらのヘルパーT細胞サブセットの機能を制御するために産生される液性因子は何か、明らかになっていない部分が多い。

精神的ストレスは交感神経系を通じて腎臓からのプロレニンの産生を促し、レニンはアンジオテンシン経路を介して血圧を調節する。プロレニンは細胞膜上のプロレニン受容体に結合することでレニンに代謝され、血圧調整に寄与する。しかし、プロレニン受容体が伝達するシグナル経路や、免疫系に対する作用はほとんど不明である。申請者は精神的ストレスが誘導するプロレニンがリンパ球の発現するプロレニン受容体に結合することで活性化され、腸管の炎症に寄与するのではないかと発想した。そこで、プロレニン受容体がヘルパーT細胞サブセットに与える影響の解析に取り組むことにした。

2. 研究の目的

本研究は、T細胞特異的プロレニン受容体(PRR)遺伝子破壊マウス(CD4Cre-PRRcKOマウス)およびリンパ球特異的PRR遺伝子破壊マウス(IL7RCre-PRRcKOMaus)を用いて、プロレニン-プロレニン受容体の結合がTh1細胞やTh17細胞、自炎症を増悪する自然リンパ球(ILC)の分化や維持、機能を促進する分子機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)未分化T細胞を単離し、培養液中にプロレニンを添加して培養した際の、各ヘルパーT細胞サブセットへの分化への影響を検討した。

(2)CD4Cre-PRRcKOMausの胸腺やリンパ組織のT細胞数を調べ、PRRがT細胞の発生や維持を促進するか検討した。また、恒常的に免疫応答が起こっている腸管において、分化したヘルパーT細胞の割合を調べ、生体内におけるヘルパーT細胞の発生に

ついて検討した。

(3) IL7R-PRRcKO マウスを用いて、B 細胞や ILC の発生に対して PRR が与える影響を調べた。

(4) マウスにストレスを負荷した際のヘルパー T 細胞の分化への影響を検討するために、ストレスを負荷したマウスとそうでないマウスに抗 CD3 抗体を投与して炎症を惹起し、T 細胞のサイトカイン産生を比較した。また、CD4Cre-PRRcKO マウスにストレスを負荷した際のヘルパー T 細胞の分化を検討した。

4. 研究成果

(1) 未分化 T 細胞にプロレニンを追加し培養した際には、Th1 細胞や Th17 細胞が若干増加する傾向が見られた。これより、プロレニンがプロレニン受容体に結合することで、ヘルパー T 細胞の分化を促進する可能性が示唆された。

(2) CD4Cre-PRRcKO マウスの胸腺やリンパ節を調べたところ、成熟した T 細胞が著減することを見出した。また、腸管における Th1 細胞や Th17 細胞の細胞数が減少していた。驚くことに、Natural killer T 細胞 (NKT 細胞) がほぼ欠損していることを見出した。 $\alpha\beta$ TCR を発現する NKT 細胞が欠損したことに反対に、NK1.1 を発現する $\gamma\delta$ T 細胞が著増していたことから、NKT 細胞の分化が失敗したことで、分化転換が起こったと考えられる。これを支持するように、PRRcKO マウスで増加していた NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T は $\alpha\beta$ TCR を発現していた。以上の結果から、PRR は T 細胞や NKT 細胞、Th1 細胞や Th17 細胞の分化や維持を促進することが示唆された。

しかし予想外に、CD4Cre-PRRcKO マウスでは腸炎が自然発症されることが発覚した。この腸炎は TCR α 欠損マウスで発生する腸炎と病態が酷似していた。CD4Cre-PRRcKO マウスの腸管においても、NK1.1 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞が増加していたことから、この細胞が病態の発生に寄与している可能性がある。この結果から、PRR は胸腺の T 細胞分化を制御しており、免疫寛容に寄与している可能性もある。

(3) IL7RCre-PRRcKO マウスにおいても、B 細胞や NK 細胞が有意に減少していた。また、2 型サイトカインを産生する ILC2 細胞が著減していた。特に、腸管に存在している IL-17 を産生する ILC3 がほとんど見られなかった。ILC3 はパイエル板などの腸管リンパ組織の形成を誘導することが知られるが、IL7RCre-PRRcKO マウスではパイエル板が見られなかった。これらの結果から、T 細胞以外のリンパ球の生存や維持、発生に PRR が大きな働きを持つことがわかった。また、ILC3 など炎症性腸疾患の発症に寄与する細胞集団の維持に寄与することがわかった。

(4) ストレスを負荷したマウスに抗 CD3 抗体を投与した際には、ストレスを負荷していないマウスに比べて Th1 細胞や Th17 細胞が顕著に増加していた。また、PRRcKO マウスに対してストレスを負荷した際にはヘルパー T 細胞の増加は見られなかった。

以上の知見から、PRR が炎症を増悪するリンパ球サブセットの発生や維持を促進することや、ストレスに際してプロレニンがヘルパーT細胞の分化を促進することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Zhu Yuanbo, Cui Guangwei, Miyauchi Eiji, Nakanishi Yuki, Mukohira Hisa, Shimba Akihiro, Abe Shinya, Tani-ichi Shizue, Hara Takahiro, Nakase Hiroshi, Chiba Tsutomu, Sebara-Fujisawa Atsuko, Seno Hiroshi, Ohno Hiroshi, Ikuta Koichi	4. 巻 32
2. 論文標題 Intestinal epithelial cell-derived IL-15 determines local maintenance and maturation of intra-epithelial lymphocytes in the intestine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 307 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz082	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 Shimba Akihiro, Ikuta Koichi	4. 巻 32
2. 論文標題 Immune-enhancing effects of glucocorticoids in response to day-night cycles and stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 703 ~ 708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxaa048	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 Shimba Akihiro, Ikuta Koichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Glucocorticoids Regulate Circadian Rhythm of Innate and Adaptive Immunity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 2143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.02143	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 Shimba Akihiro, Ikuta Koichi	4. 巻 42
2. 論文標題 Control of immunity by glucocorticoids in health and disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Seminars in Immunopathology	6. 最初と最後の頁 669 ~ 680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00281-020-00827-8	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 Akihiro Shimba, Aki Ejima, Koichi Ikuta	4. 巻 706951
2. 論文標題 Pleiotropic Effects of Glucocorticoids on the Immune System in Circadian Rhythm and Stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	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) 10.3389/fimmu.2021.706951	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 榛葉旭恒
2. 発表標題 ストレスはグルココルチコイドを介してTh17細胞を活性化する
3. 学会等名 第30回Kyoto T Cell Conference
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shimba Akihiro
2. 発表標題 Control of T cell immunity by glucocorticoids
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

日本語総説として申請者の研究成果について、雑誌「臨床免疫・アレルギー科」(第74巻第3号219-225ページ、2020年)、にて紹介した。

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
研究協力者	生田 宏一 (Ikuta Koichi) (90193177)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授 (14301)	

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