

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893115

研究課題名(和文) 制御性T細胞におけるcAMPの機能解析

研究課題名(英文) The roles of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in suppressive functions of regulatory T cells

研究代表者

三上 統久 (Mikami, Norihisa)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任研究員(常勤)

研究者番号：20710388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：cAMPシグナルの制御性T細胞に対する作用を解析した結果、制御性T細胞内におけるHeliosの安定性やIL-2発現の抑制に寄与していることが示唆された。また、制御性T細胞によってエフェクターT細胞にcAMPシグナルが伝達されることも示され、それによってエフェクターT細胞からのIL-2産生も抑制されていることが示された。さらに樹状細胞も同様に制御性T細胞によるcAMPシグナル誘導が起こることも明らかとなり、それによってIL-12など炎症性サイトカインの産生が抑制されることも示唆された。

研究成果の概要(英文)：As results of the analysis of the effect on regulatory T cells of cAMP signaling, we demonstrated that it contributes to the Helios stability and IL-2 expression in regulatory T cells. Moreover, cAMP signal is induced to effector T cells by regulatory T cells, whereby it was shown that IL-2 production from effector T cells is also inhibited. Furthermore, it becomes clear that dendritic cells are also affected by regulatory T cells occurs, and the production of inflammatory cytokines such as IL-12 were also decreased by induced cAMP signaling.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 cAMP

1. 研究開始当初の背景

Cyclic AMP (cAMP) は生体内における重要なセカンドメッセンジャーであり、ホルモンや神経伝達物質などの G タンパク質共役型受容体 (GPCR) を介した制御機構において重要な役割を果たしている。一方で、アレルギー制御において重要な細胞である制御性 T 細胞 (regulatory T cells : Treg) と cAMP の関連については十分な検討が行われていない。現在までに Treg において cAMP 濃度が高くなっていることは確認されているが、特にその生理的な役割について不明な点が多いためその部分に着目した研究を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究では制御性 T 細胞と cAMP の関連を明らかにするため、

- (1) Treg における cAMP 濃度上昇機序と cAMP シグナルの生理的意義
- (2) Treg との共培養における活性化 T 細胞内の cAMP 濃度上昇機序
- (3) 活性化 T 細胞の機能抑制時における cAMP シグナルの重要性について研究を進めた。

3. 研究の方法

- (1) Treg において高濃度に存在する cAMP が Treg 自身の分化や機能の維持に寄与しているのかどうかを明らかにするため、Treg をアデニル酸シクラーゼ阻害剤や cAMP の下流シグナルである PKA 阻害剤存在下で培養しその影響を評価した。
- (2) コントロールまたはアデニル酸シクラーゼ阻害剤で処理した Treg と共培養することで、通常は cAMP 濃度が低いエフェクター T 細胞や樹状細胞においても cAMP 濃度が増加するかどうかを免疫染色法にて検討した。
- (3) 活性化 T 細胞における cAMP 濃度の上昇はどのような重要性を持つのかを明らかにするため、活性化 T 細胞をコントロールもしくは PKA 阻害剤存在下で Treg と共培養してその影響を評価した。

4. 研究成果

(1) 制御性 T 細胞には nTreg と iTreg の二種類が存在する。nTreg における cAMP シグナルの役割を解析するため、まず nTreg における cAMP の下流シグナルを検討した。その結果、nTreg においては PKA および CREB などの下流シグナルが活性化していることを明らかにした。そこで cAMP シグナル阻害剤を nTreg に作用させた結果、Helios の発現が低下し、その細胞は IL-2 を高度に産生する細胞となっていた。cAMP シグナルの制御性 T 細胞に対する作用を解析した結果、制御性 T 細胞内における Helios の安定性や IL-2 発現の抑制に寄与していることが示唆された(図 1)。

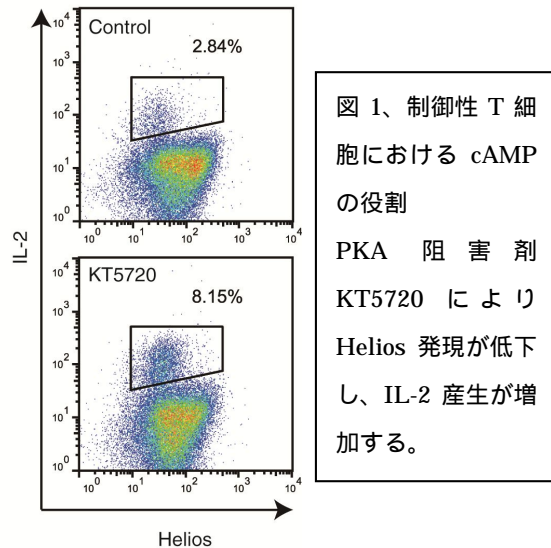


図 1、制御性 T 細胞における cAMP の役割
PKA 阻害剤 KT5720 により Helios 発現が低下し、IL-2 産生が増加する。

またこの作用を iTreg においても検討するため、iTreg 分化誘導時に cAMP アナログを添加すると Helios 陽性の iTreg が増加していた(図 2)。

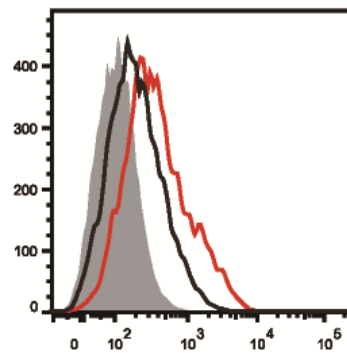


図 2、iTreg における Helios の発現
Naïve T 細胞から TGF-β によって iTreg を誘導したさいに cAMP を添加するとコントロール群(黒線)に比べて cAMP 群(赤線)で Helios の発現が上昇する。

本来 Treg は炎症性サイトカインを産生せず、むしろ IL-2 を優先的に除去することで免疫抑制作用を発揮していると考えられている。これらの結果から制御性 T 細胞における cAMP シグナルの新たな機能のひとつとして抑制性の転写因子である Helios の発現を安定化させ、IL-2 などの炎症性サイトカイン産生の抑制に寄与していることが示された。また cAMP シグナルは NFAT や CREB など Helios とは異なる経路を介して IL-2 を抑制する可能性も示されてきており、多様なシグナル系に依存した機構が存在することも示唆されている。

(2)制御性T細胞とエフェクターT細胞を共培養した結果、エフェクターT細胞においてcAMP濃度が増加することが示された(図3)。

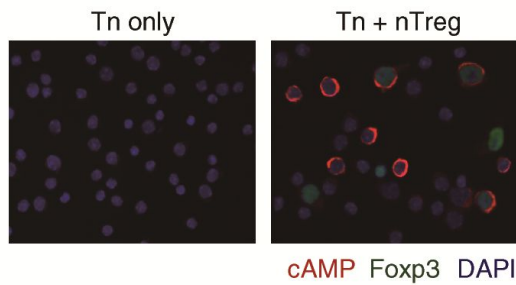


図3、制御性T細胞によるcAMP誘導
Tregとの共培養によってナイーブT細胞(Tn)におけるcAMPシグナルが強くなっていた。

また、この作用は制御性T細胞にアデニル酸シクラーゼ阻害剤を処理した場合には解除された。

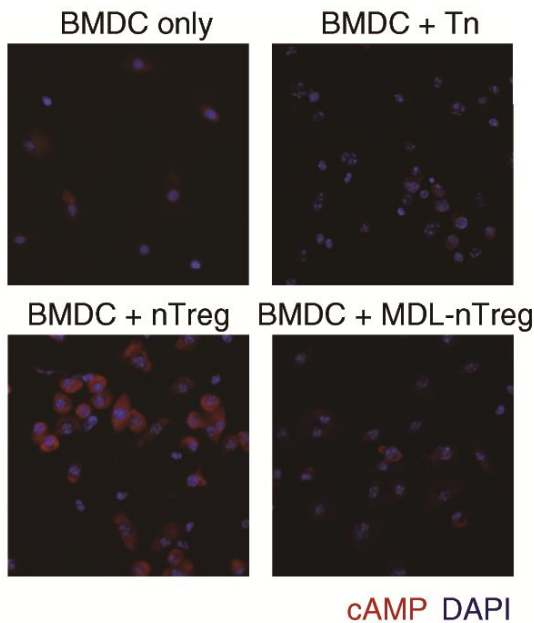


図4、制御性T細胞によるcAMP誘導
Tregとの共培養によって樹状細胞(BMDC)におけるcAMPシグナルが強くなっており、アデニル酸シクラーゼ阻害剤(MDL)で処理したTregではその作用が減弱している。

さらに同様の結果が樹状細胞との共培養でも観察された(図4)。このことから、制御性T細胞におけるcAMP濃度の上昇がエフェクターT細胞へのcAMPシグナル誘導においても重要であることが明らかとなった。

(3)このcAMPシグナル伝達がエフェクターT細胞にどのような影響を与えるのか評価した結果、エフェクターT細胞からのIL-2産生が抑制されていることが示された(図5)。さらに樹状細胞も同様に制御性T細胞によるcAMPシグナル誘導が起こることも明らかとなり、それによってIL-12など炎症性サイトカインの産生が抑制されることも示唆された。

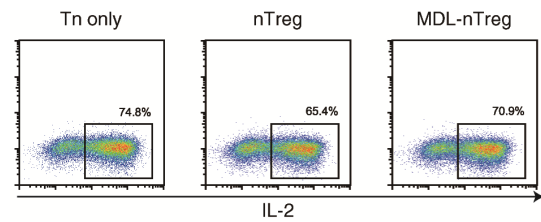


図5、制御性T細胞によるcAMP依存的な活性化T細胞機能抑制
Tregとの共培養によってエフェクターT細胞からのIL-2産生が抑えられるが、アデニル酸シクラーゼ阻害剤(MDL)処理したTregではその作用が減弱している。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

研究者番号：

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

第 42 回 日本免疫学会学術集会(2013 年 12 月 11~13 日、幕張メッセ・千葉)

Norihisa Mikami, Naganari Ohkura and Shimon Sakaguchi

The roles of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in suppressive functions of regulatory T cells

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三上 統久 (Norihisa Mikami)

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター

特任研究員

研究者番号：20710388

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()