

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04742

研究課題名(和文) ヘルパー記憶T細胞の運命決定にかかわる場の同定とその役割

研究課題名(英文) Identification and analysis of the niches for helper memory T cells

研究代表者

石井 直人 (ISHII, Naoto)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60291267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：腸管膜リンパ節がTh17エフェクター記憶T細胞の産生の場(ニッチ)として重要であると考え、それを証明するために、腸管膜リンパ節の切除を行い、腸管膜リンパ節欠損マウスを作成した。同マウスにTh17細胞依存的実験的小腸炎を惹起したところ、CD4陽性T細胞の腸管組織への浸潤が有意に抑制されることがわかった。したがって、腸管膜リンパ節が小腸炎症の病態形成に関与するTh17細胞の産生に必須の役割を果たすことがわかった。しかし、この小腸炎症は、抗OX40阻害性抗体の投与では抑制されなかったことから、小腸炎症を惹起するTh17細胞の産生におけるOX40の関与は否定的であった。

研究成果の概要(英文)：Accumulating evidence suggests that mesenteric lymph nodes (MLNs) play important roles in gut-tropic Th17 cell generation, although it is still unclear if MLNs are involved in the pathogenesis of small intestinal inflammation. To address this issue, we analyzed the roles of both MLNs and Peyer's patches (PPs) by evaluating MLN- or PP-deficient mice in an experimental model of small intestinal inflammation. MLNs, but not PPs, were essential for the pathogenesis of the intestinal inflammation, in particular the accumulation and infiltration of Th17 cells. Furthermore, MLN removal led to a significantly reduced number of peripheral $4^{-}7^{+}$ CD4⁺ effector memory T (TEM) cells under normal conditions, suggesting that MLNs may play a role in maintaining the number of gut-tropic Th17-TEM cells circulating in the blood. Taken together, the present study highlights the important role of MLNs in contributing to the pathogenesis of small intestinal inflammation.

研究分野：免疫学

キーワード：記憶T細胞 ニッチ 腸管膜リンパ節

1. 研究開始当初の背景

T細胞は抗原刺激によって活性化し、その後の運命はT細胞補助刺激分子とサイトカインからのシグナルが決定する。補助刺激分子であるOX40 (CD134)は、抗原認識後のT細胞の分化の方向性を制御すると同時に、活性化T細胞の活性化状態の維持と生存を促進し、エフェクター機能の持続と記憶T細胞への分化に重要な役割を果たす。また、OX40のエフェクターT細胞の生存を促進する作用、および制御性T細胞の分化と機能を抑制する作用は自己免疫・炎症性疾患の病態形成に強く関与する。

記憶T細胞は、全身性の免疫記憶を司るセントラル記憶T細胞と、臓器特異的に維持されるエフェクター記憶T細胞に大別される。CD4陽性のTEM細胞は、増殖能は低いとされるが、多量のThサイトカインを産生する。したがって、CD4+ TEM細胞こそがヘルパー記憶T細胞と考えられている。CD4+ TEM細胞は、臓器特異的炎症反応すなわち関節リウマチなどのT細胞依存的自己免疫疾患の病態形成にも密接に関与することから、TEM細胞の産生と維持の分子機構を明らかにすることは、免疫学的に臨床医学的にも重要な研究課題である。

2. 研究の目的

臓器特異的な炎症反応を司るTh17-TEM細胞が、OX40シグナル依存的な速い増殖の過程で産生される可能性をみいだした。そこで本研究では、OX40Lが発現する場所を特定することにより、Th17-TEM細胞が産生(あるいは維持)される場(ニッチ)を同定し、Th17-TEM細胞の産生と維持の分子機構の解明を行う。

3. 研究の方法

(1)「速い増殖」の場(ニッチ)に存在するOX40L発現細胞を同定し、TEM細胞ニッチの機能構築にかかわる細胞、分子の同定と機能の解明を行う。

(2)Rory(t)レポーターマウスを用いて、「速い増殖」のIL-17産生能賦与の役割と制御機構を解析する。

(3)MLNを切除したマウスがEAEに抵抗性であることから、ニッチの一つとしてMLNを想定している。そこで、MLN切除マウスにT細胞依存的自己免疫疾患EAEを誘導し、抗原特異的TEM細胞の機能修飾におけるMLNの細胞および機能分子の役割を明らかにする。

以上の実験から得られた知見により、ヘルパーTEM細胞のニッチの同定とその機能構築にかかわる細胞・分子の役割を解明し、免疫記憶と自己免疫疾患の病態形成にかかわるヘルパー記憶T細胞運命決定の分子メカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

腸管膜リンパ節がTh17-TEM細胞の産生現場として重要であると考え、それを証明するために、腸管膜リンパ節の切除を行い、腸管膜リンパ節欠損マウスを作成した。同マウスに抗CD3抗体を投与しTh17細胞依存的実験的小腸炎を惹起したところ、CD4陽性T細胞の腸管組織への浸潤が有意に抑制されることがわかった(論文12)。したがって、腸管膜リンパ節が小腸炎症の病態形成に関与するTh17細胞の産生に必須の役割を果たすことが判明した。他方、この小腸炎症は、抗OX40リガンド阻害性抗体の投与では抑制されなかったことから、小腸炎症を惹起するTh17細胞の産生におけるOX40リガンドの関与は否定的であった。

また、腸管膜リンパ節欠損マウスでは、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)の発症が抑制されることがわかり、その抑制の作用機序について検討を行った。具体的には、腸管膜リンパ節欠損マウスをレシピエントとして、あらかじめMOGで感作したTh17細胞を移入することで惹起されるpassive EAEを行った。しかし、Sham手術コントロール群のレシピエントマウスとEAE重症度に有意な差は認められなかった。一方、腸管膜リンパ節欠損マウスあるいは野生型マウスにMOGを感作して作成したそれぞれのMOG特異的Th17細胞を野生型レシピエントマウスにpassive EAEを惹起したところ、この実験においても、両群でEAEの重症度に差は認められなかった。現時点で、腸管膜リンパ節欠損マウスでのEAE発症抑制のメカニズムは不明であり、さらなる解析が必要である。

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)

(雑誌論文)(計17件)

1. Kimura M, Nagashima H, Okuyama Y, Ishii N, and So T: TRAF2 and TRAF5 associated with the signal transducing receptor gp130 limit IL-6-driven transphosphorylation of JAK1 through the inhibition of proximal JAK-JAK interaction. *Int. Immunol.* 2018, in press, doi: 10.1093/intimm/dxy029 (査読有)
2. Machiyama T, So T, Okuyama Y, Kobayashi S, Phung HT, Asao A, Harigae H, and Ishii N: TNF receptor associated factor 5 controls oncostatin M-mediated lung inflammation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018, in press, 10.1016/j.bbrc.2018.03.186 (査読有)
3. Nagashima H, Okuyama Y, Fujita T, Takeda T, Motomura Y, Moro K, Hidaka T, Omori K, Sakurai T, Machiyama T, Ndlovu LC, Riccardi C, So T, and Ishii N: GITR co-signal in ILC2 controls allergic lung inflammation. *J*

- Allergy Clin Immunol.* 2018, in press, doi: 10.1016/j.jaci.2018.01.028 (査読有)
4. Ebina-Shibuya R, Matsumoto M, Kuwahara M, Jang K-J, Sugai M, Ito Y, Funayama R, Nakayama K, Sato Y, Ishii N, Okamura Y, Kinoshita K, Kometani H, Kurosaki T, Muto A, Ichinose M, Yamashita M, and Igarashi K: Inflammatory responses induce an identity crisis of alveolar macrophages leading to pulmonary alveolar proteinosis. *J Biol Chem*, 292: 18098-18112, 2017, doi: 10.1074/jbc.M117.808535 (査読有)
 5. Lan P, Fan Y, Zhao Y, Lou X, Monsour HP, Zhang X, Choi Y, Dou Y, Ishii N, Ghobrial RM, Xiao X, Li XC.: TNF superfamily receptor OX40 triggers invariant NKT cell pyroptosis and liver injury. *J Clin Invest.* 127: 2222-34, 2017, doi: 10.1172/JCI91075 (査読有)
 6. Suzuki T, Gao J, Ishigaki Y, Kondo K, Sawada S, Izumi T, Uno K, Kaneko K, Tsukita S, Takahashi K, Asao A, Ishii N, Imai J, Yamada T, Oyadomari S, and Katagiri H.: ER stress protein CHOP mediates insulin resistance by modulating adipose tissue macrophage polarity. *Cell Rep.* 18: 2045-2057, 2017, doi: 10.1016/j.celrep.2017.01.076 (査読有)
 7. Lu L, Tanaka Y, Ishii N, Sasano T, and Sugawara S.: CD103+ CD11b- salivary gland dendritic cells have antigen cross-presenting capacity. *Eur J Immunol.* 47: 305-313, 2017. doi: 10.1002/eji.201646631 (査読有)
 8. Tanaka Y, Nagashima H, Bando K, Lu L, Ozaki A, Morita Y, Fukumoto S, Ishii N, Sugawara S: Oral CD103-CD11b+ classical dendritic cells present sublingual antigen and induce Foxp3+ regulatory T cells in draining lymph nodes. *Mucosal Immunol.* 10: 79-90, 2017. doi: 10.1038/mi.2016.46 (査読有)
 9. Akhter N, Takeda Y, Nara H, Araki A, Ishii N, Asao N, and Asao H. Apurinic/apurimidinic endonuclease 1/redox factor-1 (Ape1/Ref-1) modulates antigen presenting cell-mediated T helper cell type 1 responses. *J Biol Chem* 291: 23672-23680, 2016, 10.1074/jbc.M116.742353 (査読有)
 10. Nagashima H, Okuyama Y, Hayashi T, Ishii N, and So T.: TNF receptor-associated factor-2 and -5 differentially regulate the instructive IL-6 receptor signaling that requires for Th17 development.: *J. Immunol.*, 196: 4082-4089, 2016. doi: 10.4049/jimmunol.1501610 (査読有)
 11. Hirano T, Kikuchi T, Tode N, Santoso A, Yamada M, Mitsuhashi Y, Komatsu R, Kawabe T, Tanimoto T, Ishii N, Tanaka Y, Nishimura H, Nukiwa T, Watanabe A, and Ichinose M.: OX40 ligand newly expressed on bronchiolar progenitors mediates influenza infection and further exacerbates pneumonia. *EMBO Mol. Med.* 8: 422-36, 2016. doi: 10.15252/emmm.201506154 (査読有)
 12. Kawabe T, Suzuki N, Yamaki S, Sun S-L, Asao A, Okuyama Y, So T, Iwakura Y, and Ishii N: Mesenteric lymph nodes contribute to proinflammatory Th17-cell generation during inflammation of the small intestine in mice. *Eur. J. Immunol.* 46: 1119-1131, 2016, doi: 10.1002/eji.201545907 (査読有)
 14. Shoji T, Saito R, Chonan M, Shibahara I, Sato A, Kanamori M, Sonoda Y, Kondo T, Ishii N, and Tominaga T.: Local convection-enhanced delivery of an anti-CD40 agonistic monoclonal antibody induces antitumor effects in mouse glioma models. *Neuro-Oncology*, 18: 1120-1128, 2016. doi: 10.1093/neuonc/nov023 (査読有)
 15. Chew GM, Fujita T, Webb GM, Burwitz BJ, Wu HL, Reed JS, Hammond KB, Clayton KL, Ishii N, Abdel-Mohsen M, Liegler T, Mitchell BI, Hecht FM, Ostrowski M, Shikuma CM, Hansen SG, Maurer M, Korman AJ, Deeks SG, Sacha JB, Ndhlovu LC.: TIGIT marks exhausted T cells, correlates with disease progression, and serves as target for immune restoration in HIV and SIV infection. *PLoS Patholog.* 12: e1005349, 2016. doi: 10.1371/journal.ppat.1005349 (査読有)
 16. So T, Nagashima H, and Ishii N: TNF receptor-associated factor (TRAF) signaling network in CD4+ T-lymphocytes. *Tohoku J. Exp. Med.*, 236: 139-54, 2015. doi: 10.1620/tjem.236.139 (査読有)
 17. Chonan M, Saito R, Shoji T, Shibahara I, Kanamori M, Sonoda Y, Watanabe M, Kikuchi T, Ishii N, and Tominaga T.: CD40/CD40L expression correlates with the survival of patients with glioblastomas and an augmentation in CD40 signaling enhances the efficacy of vaccinations and prolongs survival in intracranial glioma- and glioma-initiating cell-isografted tumor models. *Neuro-Oncology*, 17: 1453-62, 2015. doi: 10.1093/neuonc/nov090 (査読有)

[学会発表](計 19 件)

1. Masanobu Kimura, Hiroyuki Nagashima, Naoto Ishii, Takanori So: TRAF2 and TRAF5 binding to the signal transducing receptor gp130 inhibit JAK1 activation in the IL-6-receptor signaling complex. 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (2017)
2. Takanori So, Hiroyuki Nagashima, Yuko Okuyama, Yasutaka Motomura, Kazuyo Moro, Lishomwa C. Ndhlovu, Carlo Riccardi, Naoto Ishii: Early activation of group 2 innate lymphoid cells in the lung is critically controlled by the TNFR superfamily molecule GITR. 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (2017)
3. Yuko Okuyama, Hiroyuki Nagashima, Masuko Ushio-Fukao, Michael Croft, Naoto Ishii, Takanori So: A new regulator of OX40 co-signaling controls autoimmune neuroinflammation mediated by CD4+ T cells. 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (2017)
4. Hai T PHUNG, Hiroyuki Nagashima, Yuko Okuyama, Shuhei Kobayashi, Atsuko Asao, Naoto Ishii, Takanori So: TNF receptor-associated factors 5 expressed in non-hematopoietic cells augments acute colonic damage induced by dextran sulfate sodium. 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (2017)
5. NAGASHIMA Hiroyuki, OKUYAMA Yuko, HAYASHI Takaya, ISHII Naoto, SO Takanori: A novel regulatory role for TRAF2 and TRAF5 in the IL-6-driven Th17 development. The 2017 Japan-NIH Joint Symposium (2017)
6. Hiroyuki Nagashima, Takanori So, Naoto Ishii: 2 型自然リンパ球の新たな制御機構の解明、第 6 回 Multidisciplinary meeting on atherosclerosis (2017)
7. NAGASHIMA Hiroyuki, OKUYAMA Yuko, HAYASHI Takaya, ISHII Naoto, SO Takanori: TRAF2 and TRAF5 have redundant but unequal inhibitory roles in Th17 differentiation mediated by IL-6 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (2016)
8. Hiroyuki Nagashima, Yuko Okuyama, Takaya Hayashi, Atsuko Asao, Takeshi Kawabe, Satoshi Yamaki, Hiroyasu Nakano, Michael Croft, Naoto Ishii, Takanori So: "CD4+ T cell-intrinsic TRAF5 negatively regulates Th17 cell-dependent experimental autoimmune encephalomyelitis. International congress of immunology 2016 (2016)
9. OKUYAMA Yuko, ATSUMI Toru, JIANG Jing-Jing, NAKAMURA Akihiro, OGURA Hideki, MENG Jie, KAMIMURA Daisuke, ISHII Naoto, HIRANO Toshio, MURAKAMI Masaaki: A novel regulator of NFκB signaling enhances IκBα ubiquitination and promotes inflammatory disease development. International Congress of Immunology 2016 (2016)
10. So T., H. Nagashima, Y. Okuyama, T. Hayashi, A. Asao, T. Kawabe, S. Yamaki, H. Nakano, M. Croft, N. Ishii: TRAF adaptors limit IL-6 receptor signaling through an unexpected binding to the signaling transducer receptor gp130. International Congress of Immunology 2016 (2016)
11. OKUYAMA Yuko, NAGASHIMA Hiroyuki, MACHIYAMA Tomoaki, USHIO-FUKAI Masuko, CROFT Michael, ISHII Naoto, SO Takanori: OX40 binding and regulation of T cell activation by the scaffolding IQGAP1 protein. 45th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2016)
12. Nagashima H, Okuyama Y, Hayashi T, Ishii N, So T: TRAF2 and TRAF5 limit the differentiation of Th17 cells mediated by IL-6. 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2015)
13. Okuyama Y, Nagashima H, Ushio-Fukai M, Croft M, Ishii N, So T: IQGAP1 regulates OX40 co-signaling in CD4+ T cells. 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2015)
14. Asao A, Fujita T, So T, Hoshino T, Ishii N: OX40-mediated susceptibility to imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation is dependent on IL-13. 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2015)
15. Suzuki N, Murata K, Okuyama Y, Asao A, So T, Tanaka N, Ishii N: Hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate is required for T cell development and survival. 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2015)
16. Tanaka Y, Nagashima H, Ishii N, Sugawara S: Oral classical dendritic cells induce

sublingual antigen-specific regulatory T cells in draining lymph nodes. 44th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2015)

17. Nagashima H, Ishii N: Traf2 と Traf5 を介したインターロイキン 6 (IL-6) シグナル制御、第 5 回 Multidisciplinary meeting on atherosclerosis (2016)
18. Ishii N: Role of mesenteric lymphnodes in CD4 T cell homeostasis. 1st Symposium of Creation and Future Trends in Food and Agricultural Immunology (2015)
19. G Chew, T Fujita, Gabriela W Burwitz, K Clayton, N Ishii, M Abdel-Mohsen, T Liegler, F Hecht, M Ostrowski, M Maurer, A Korman, S Deeks, J Sacha and L Ndhlovu: Investigating the Role of the Immune Checkpoint Receptor TIGIT in T cells during HIV Disease Progression and as Target for Immune Restoration. 8th Conference of International AIDS association (2015)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.immunol.med.tohoku.ac.jp//index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石井 直人 (ISHII NAOTO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：60291267

(2)研究分担者

宗 孝紀 (SO TAKANORI)

富山大学・大学院医学薬学研究部・教授

研究者番号：60294964

(3)研究分担者 (平成 27 年度のみ)

奥山 祐子 (OKUYAMA YUKO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50624475