

令和元年6月12日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09893

研究課題名（和文）骨髄由来抑制細胞の炎症における役割の解明と新規免疫抑制療法の開発

研究課題名（英文）myeloid derived suppressor cells as a novel immune therapy

研究代表者

森信 暁雄（Morinobu, Akio）

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：10294216

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：申請者らはMDSCを投与するとSKG関節リウマチモデルマウスの関節炎が軽減することを示した。SKGマウスの肺病変を利用して炎症部位におけるMDSCの役割を解明するために研究した。結果として、肺内MDSCはT細胞増殖抑制作用を持つことを明らかにした。さらに、肺内には新規制御性の樹状細胞が増えつつあることを見出した。この細胞は肺内でTGFβによって誘導されると考えられ、また養子移入により肺病変を抑制した。この結果は、炎症部位においては新たな免疫抑制機序が働いていることを示し、新規治療法の開発につながる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この結果は、炎症部位においては新たな免疫抑制機序が働いていることを示し、新規治療法の開発につながる。今後はヒトにおいて病勢との関連や、細胞治療への応用のための研究が期待される。

研究成果の概要（英文）：In order to clarify the role for myeloid derived suppressor cells (MDSC) in ILD on SKG model mice, we examined the function and origin of lung-infiltrating MDSC and MDSC. First we identified MDSC and novel tolerogenic DC-like cells in the inflamed lungs. Next we isolated these populations and co-cultured with T cells to find that both of these cells are immuno-suppressive. The latter cells were induced from total lung cells and lung MDSCs in a TGFβ dependent manner. Also adoptive transfer of the latter cells ameliorated the progression of ILD. Our findings will pave the way to a novel immunosuppressive therapy and cell-based therapies in the future.

研究分野：膠原病リウマチ学

キーワード：関節リウマチ リウマチ肺 樹状細胞 骨髄由来抑制細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者らは MDSC を投与すると SKG 関節リウマチモデルマウスの関節炎が軽減することを示し (Arthritis Rheumatol. 2015 Apr, 文献 2)、確かに MDSC が炎症を抑制することを明らかにした。現時点では、炎症における MDSC の役割については不明点が多い。MDSC は未熟なミエロイド系細胞であるために、樹状細胞やマクロファージへ分化してしまう可能性があると考えているが、炎症部位での MDSC の動態についてはほとんど報告がない。現在まで炎症部位での研究が少なかった理由として適切なモデルがないことが考えられる。SKG マウスは肺病変 (リウマチ肺モデル) を起こすことが知られているが、申請者はここに MDSC が集積し、病変が進むと樹状細胞様集団が集積することを見出した。今までの報告では、骨髄や脾臓の MDSC について研究されてきたが、申請者は、SKG マウスの肺病変を利用して炎症部位における MDSC の役割を解明したいと考えている。

2. 研究の目的

炎症部位と骨髄の MDSC の差異を明らかにする。炎症部位で MDSC が分化している可能性を示す。炎症部位で MDSC の分化を制御する薬剤を探す。MDSC 投与+ の薬剤の併用療法による自己免疫疾患治療を提唱する。
以上により、新規細胞からの病態解明と治療開発を目指す。

3. 研究の方法

そのために、下記の実験を行う。

炎症部位と骨髄の MDSC の差異を明らかにする。A) 骨髄 MDSC および肺 MDSC をとりだして、細胞表面分子 (CD80/86、CD40 など) を FACS で、サイトカイン産生 (IL-6、TNF α 、IL-10) を ELISA で、および arginase1 と NOS の発現を Western 法で比べる。B) 骨髄 MDSC および肺 MDSC を MACS beads で単離して、CD3+CD28 で刺激した T 細胞と共培養する。T 細胞の増殖を BrDU-ELISA で測定する。骨髄 MDSC と肺 MDSC の T 細胞増殖抑制能の違いを明らかにする。炎症部位で MDSC が機能変化している可能性を示す。肺組織に集積する細胞を取り出し、IFN γ 、IL-4、M-CSF、GM-CSF を添加して 5 日間培養後、FACS で MDSC と樹状細胞を染め分ける。これにより MDSC が樹状細胞様細胞に変化するかどうかを明らかにする。炎症部位で MDSC の機能変化を制御する薬剤を探す。肺病変から採取した MDSC を様々なサイトカイン存在下で培養し、肺病変に出現する樹状細胞様細胞に分化させる因子を検討する。予備実験では GM-CSF が候補サイトカインである。MDSC または樹状細胞で自己免疫疾患を治療する。新規抑制性樹状細胞サブセットを投与して、マウス肺病変を治療する。MDSC や抑制性樹状細胞を介した免疫抑制治療を開発するための基礎実験として、代謝改変剤による免疫抑制細胞の機能改変と関節炎治療のための研究を開始する。

4. 研究成果

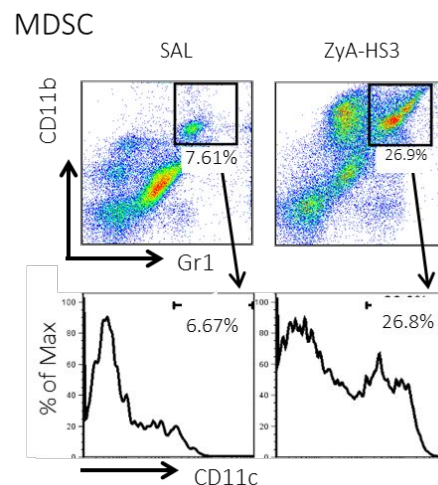
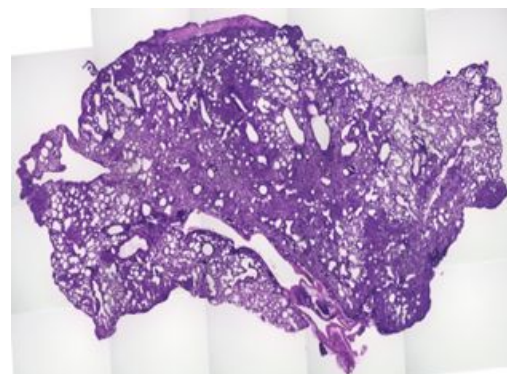
SKG マウス肺病変を確認した。さらに MDSC が浸潤していることを確認した。

次に肺から MDSC を FACS で確認した。一部は CD11c 陽性であった。これらの細胞を単離して、CD4naiveT 細胞と共培養したところ、抑制能を示した。

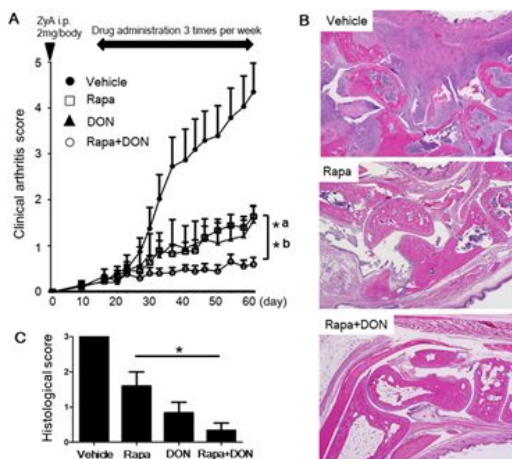
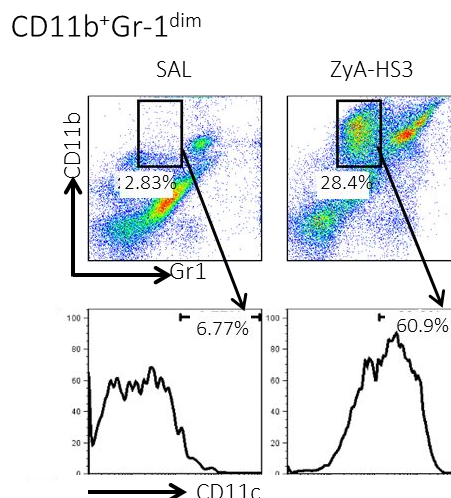
研究の過程で、進行した肺病変部では、CD11b+Gr1dim の細胞群が増殖していることが判明した。この細胞群は CD11c を発現しており、樹状細胞と考えられた。これらの細胞を単離して、CD4naiveT 細胞と共培養したところ、抑制能を示した。この新規細胞群を CD11b+Gr1dimtolerogenic like DC と名付けた。

SKGA マウス肺細胞を取り出して GM-CSF 存在下で培養すると、CD11b+Gr1dimtolerogenic like DC が郵送で来た事より、この細胞は「肺内で分化してくることが明らかとなった。

さらに、抗 TGF β 抗体を用いて、TGF β を中和すると、CD11b+Gr1dimtolerogenic like DC の産生が抑制された。このことより、肺内のストローマ細胞から分泌される TGF β が CD11b+Gr1dimtolerogenic like DC 誘導に関与していると推察された。



最後に、CD11b+Gr1dimtolerogenic like DC を養子移入すると、SKG マウス肺病変を抑えた。次に、MDSC や T 細胞の代謝抑制剤による制御を試みた。グルタミン阻害剤である DON は MDSC を増やし、樹状細胞やマクロファージへの分化を抑制した。また、DON やラパマイシンは Th 1 7 細胞への分化を抑制した。DON とラパマイシンを併用すると SKG マウス関節炎を協調的に抑制することが示された。生体では T 細胞抑制効果が大きかった。



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

Ueda Y, Saegusa J, Okano T, Sendo S, Yamada H, Nishimura K, Morinobu A. Additive effects of inhibiting both mTOR and glutamine metabolism on the arthritis in SKG mice. **Sci Rep**. 2019 Apr 23;9(1):6374.

Sendo S, Saegusa J, Okano T, Takahashi S, Akashi K, Morinobu A. CD11b+ Gr1dim Tolerogenic Dendritic Cell-like Cells are Expanded in Interstitial Lung Disease in SKG Mice. **Arthritis Rheumatol**. 69(12):2314-2327, 2017

Takahashi S, Saegusa J, Sendo S, Okano T, Akashi K, Irino Y, Morinobu A. Glutaminase 1 plays a key role in the cell growth of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. **Arthritis Res Ther**.19:76:1-11 2017

Okano T, Saegusa J, Nishimura K, Takahashi S, Sendo S, Ueda Y, Morinobu A. 3-bromopyruvate ameliorate autoimmune arthritis by modulating Th17/Treg cell differentiation and suppressing dendritic cell activation. **Sci. Rep**. 7:42412:1-10. 2017

Takaichi Okano, Jun Saegusa, Soshi Takahashi, Yo Ueda, Akio Morinobu Immunometabolism in rheumatoid arthritis. **Immunological Medicine** Vol 41, - Issue 3 Pages 89-97, 2018

Sendo S, Saegusa J, Morinobu A. Myeloid-derived suppressor cells in non-neoplastic inflamed organs. **Inflamm Regen**. 17;38:19. 2018

[学会発表] (計 10 件)

- 1 . Sho Sendo, Jun Saegusa, Yoshihide Ichise, Hirotaka Yamada, Ikuko Naka, Takaichi Okano, Soshi Takahashi, Yo Ueda, Akashi Kengo, Akira Onishi, Akio Morinobu CD11b+Gr1dim Tolerogenic Dendritic Cell-Like Cells are Expanded in Interstitial Lung Disease in SKG Mice. EULAR Congress 2017
- 2 . Yo Ueda, Jun Saegusa, Takaichi Okano, Sho Sendo, Keisuke Nishimura, Hirotaka Yamada, Soshi Takahashi, Kengo Akashi, Akio Morinobu. Inhibition of the mTOR Pathway and Glutaminolysis Facilitates the Expansion of Myeloid-Derived Suppressor Cells and Synergistically Ameliorates Arthritis in SKG Mice. 日本免疫学会
- 3 . その他 8 編

[図書] (計 0 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：
国内外の別：

取得状況（計 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。