

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15288

研究課題名(和文) グルココルチコイドとIL-7レセプターによるT細胞の体内動態と機能の制御

研究課題名(英文) Control of dynamics and function of T cells by glucocorticoids via IL-7 receptor expression

研究代表者

生田 宏一 (Ikuta, Koichi)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号：90193177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：グルココルチコイドは、強い免疫抑制作用を持つが、免疫系における生理的な機能については不明であった。グルココルチコイドがT細胞のサイトカイン受容体IL-7Rとケモカイン受容体CXCR4の発現量を夜間に高め昼間に下げていること、その日内変動が昼間に血中に留まり夜間にリンパ組織に集まるT細胞の体内分布の日内変動を引き起こしていることがわかった。さらに、T細胞が夜間にリンパ組織に集まることで、リンパ球が効率的に活性化され、強い免疫応答が引き起こされることがわかった。以上の結果から、グルココルチコイドが、T細胞の循環と応答の日内変動を制御することで、免疫機能を高める生理機能をもつことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Glucocorticoids are a group of steroid hormones with strong anti-inflammatory and immunosuppressive effects. However, the physiological function of glucocorticoids in the immune system remains largely unclear. We found that the glucocorticoid receptor induces IL-7 receptor (IL-7R) expression in T cells by binding to the enhancer of the IL-7R locus, and that the induction followed diurnal rhythm of glucocorticoid concentration. The diurnal expression of IL-7R supported T cell survival and triggered T cell redistribution between lymph nodes, spleen, Peyer's patches and blood by inducing the chemokine receptor, CXCR4. CXCR4 induction triggered T cell migration to spleen and Peyer's patches. Consequently, T cell accumulation in spleen promoted immune responses against systemic bacterial infection and antigen administration. Our study reveals the immunoenhancing role of glucocorticoids, and provides insights how the immune function is controlled by the diurnal rhythm.

研究分野：免疫学

キーワード：ステロイド T細胞 IL-7 概日リズム 内分泌系 適応免疫 糖質コルチコイド

1. 研究開始当初の背景

グルココルチコイド(GC)は副腎皮質ホルモンの一つであり、広汎な機能を持つ重要なステロイドホルモンである。GCの血中濃度は、ヒトでは昼に高く夜に低い概日変動をする。免疫系との関係では、GCの抗炎症効果や免疫抑制効果などの薬理作用が注目され、広く治療に用いられているが、その生理的な機能についてはほとんど不明である。

インターロイキン7レセプター(IL-7R)は、リンパ球前駆細胞の増殖・分化や成熟T細胞の維持など、T細胞の各分化段階において重要な働きをしている。IL-7Rの発現は、T細胞の分化過程において厳密に制御されており、正の選択やクローン選択が正しく行われるのに必要である。しかし、IL-7Rの発現制御機構については不明の点が多い。

研究代表者は、IL-7R α 鎖遺伝子プロモーターの3.5 kb上流にエンハンサーが存在し、グルココルチコイド受容体(GR)がその中に存在するGR結合配列(モチーフ)に結合することで転写を活性化することを明らかにした(Lee et al, J Immunol, 174:7800, 2005)。また、このエンハンサーを欠失したマウスを作製し解析したところ、末梢T細胞のIL-7Rの発現が低下し、細菌に対する免疫応答能が低下していることを見出した(Abe et al, J Immunol, 195:3129, 2015)。さらに、IL-7R α エンハンサーGRモチーフ変異マウスを作製し解析したところ、GCの概日変化と連動するIL-7R発現の変化が消失するとともに、夜間に脾臓に集まり昼間に末梢血に出るというT細胞の体内分布の変動も無くなり、細菌感染に対する免疫応答が低下することを発見した。以上の結果から、GCがIL-7Rの発現を介してT細胞の体内動態と機能をコントロールしている可能性が強く示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、申請者が独自に作製したGRモチーフ変異マウスを用いて、GCがIL-7Rの発現をコントロールすることでT細胞の体内分布の概日変動を制御するメカニズムを解明する。さらに、GCの概日リズムがT細胞の機能分化や免疫応答などのさまざまな免疫機能を制御することを明らかにする。

(1) GCによるT細胞の体内動態の制御

GCとIL-7Rがケモカイン受容体CXCR4の発現を誘導することで、T細胞の体内分布の概日変動を制御することを、GRモチーフ変異マウスと種々の条件的ノックアウト(cKO)マウスを用いて明らかにする。

(2) GCの概日リズムによる免疫機能の制御

GCの概日リズムがヘルパーT細胞の機能分化や病原微生物に対する免疫応答を制御することを、GRモチーフ変異マウスとGR cKOマウスを用いて明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、GCがIL-7Rの発現をコントロールすることでT細胞の体内分布の概日変動を制御するメカニズムと、GCの概日リズムがT細胞の機能分化や免疫応答を制御することを明らかにするために、下記項目について研究を実施する。

(1) GCによるT細胞の体内動態の制御

GRモチーフ変異マウス、GR条件的ノックアウト(cKO)マウス、CXCR4 cKOマウスを用いて、GCとIL-7Rがケモカイン受容体CXCR4の発現を誘導することで、T細胞の体内分布の概日変動を制御することを明らかにする。

(2) GCの概日リズムによる免疫機能の制御

GRモチーフ変異マウスとGR cKOマウスを用いて、GCの概日リズムがヘルパーT細胞の機能分化や病原微生物に対する免疫応答や自己免疫疾患の発症を制御することを明らかにする。

4. 研究成果

GCがIL-7Rの発現を誘導することの免疫学的な意義を解析するために、IL-7R α 鎖遺伝子エンハンサーのGR結合モチーフに点突然変異を導入したIL-7R α -GRmutマウスとT細胞特異的にGRを欠損するCD4Cre GRcKOを解析した。

(1) GCによるT細胞の体内動態の制御

まずGCの濃度が日内変動することに着目し、一日の各時間帯におけるマウスのT細胞の変化を解析した。その結果、まず、正常マウスT細胞のIL-7R発現レベルも夜に高く昼に低い日内変動を示したが、IL-7R α -GRmutマウスではこの変動が消失していた。また、T細胞特異的にGRを欠損するCD4Cre GRcKOマウスでも同様の結果を示した。したがって、GCの生理的な日内変動が、GRのCNS-1領域への結合を介して、T細胞におけるIL-7Rの発現の日内変動を誘導することが明らかとなった。

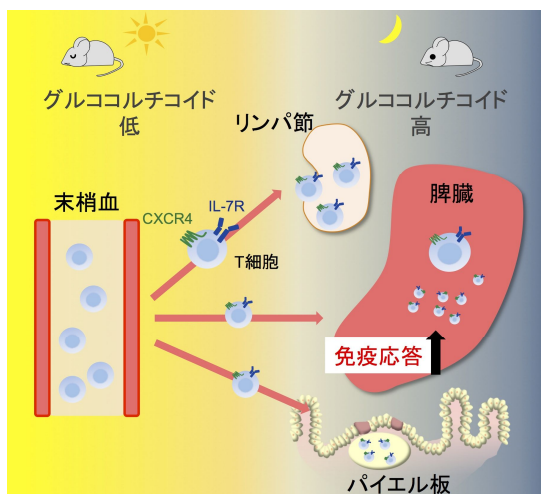
次に、脾臓、パイエル板、リンパ節などのリンパ組織におけるT細胞の数を調べると、正常マウスでは脾臓のT細胞数が夜に増加し昼に減少する一方、末梢血中では逆に昼に増加し夜に減少した。これに対し、2種類の変異マウスではこのようなT細胞数の日内変動が見られなかった。また、正常マウスでは脾臓へのホーミングに必要なCXCR4の発現レベルがIL-7Rと同様の日内変動を示したが、2種類の変異マウスではその変動が消失していた。T細胞特異的にCXCR4を欠損するCD4Cre CXCR4cKOマウスでは、T細胞数の日内変動が見られなかった。したがって、GCがIL-7Rを介して、夜間にリンパ組織に集まり、昼間には末梢血に出て行くという、T細胞の再循環をコントロールしていることが示された。

(2) GCの概日リズムによる免疫機能の制御

続いて、研究代表者らは、GCがT細胞の体内分布を制御することが、免疫機能にどのような意義があるのかを解析した。まず、野生型マウスにリステリア菌を夜間と昼間にそれぞれ感染させ、その7日後に脾臓におけるリステリア菌特異的なCD8 T細胞を調べた。その結果、夜間に感染させた場合の方が昼間に感染させた場合よりも、特異的なCD8 T細胞の割合と絶対数が高かった。一方、上記の2種類の変異マウスを用いると、夜間と昼間の免疫の差が見られず、いずれも低値を示した。

次に、B細胞による抗体産生応答を解析した。まず、野生型マウスに卵白アルブミンを夜間と昼間にそれぞれ免疫し、12日後のリンパ組織を調べた。その結果、夜間に免疫した場合の方が昼間に免疫した場合よりも、濾胞ヘルパーT細胞と胚中心B細胞の割合と絶対数が高かった。一方、GR cKOマウスでは夜間と昼間の免疫の差が見られず、常に低値を示した。さらに、NP修飾卵白アルブミンを夜間と昼間にそれぞれ免疫し、20日後の血清中の抗NP抗体を調べた。その結果、夜間に免疫した場合の方が昼間に免疫した場合よりも、IgG1とIgG2bの抗NP抗体レベルが高かった。一方、GR cKOマウスでは夜間と昼間の免疫の差が見られず、常に低値を示した。したがって、野生型マウスでは、夜間にリンパ組織のT細胞の反応性が高くなっており、昼間には逆に低くなるという日内変動を示し、GCが免疫応答能の日内変動をコントロールしていることが示された。

以上の結果から、免疫抑制作用で有名なGCが、生体内においてはT細胞の循環と応答の日内変動を制御することで、逆に免疫機能を高める働きをもつことが明らかになった(Shimba et al, *Immunity*, 48:286, 2018) (図)



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7件)

Baumann, N., Torti, N., Welten, S. P. M., Barnstorf, I., Borsa, M., Pallmer, K., Oduro, J. D., Cicin-Sain, L., Ikuta, K., Ludewig, B., and Oxenius, A. (2018). Tissue maintenance of CMV-specific inflationary memory T cells by IL-15. *PLoS Pathog.*, 14(4): e1006993、[査読有](#)

DOI: 10.1371/journal.ppat.1006993.

Shimba, A., Cui, G., Tani-ichi, S., Ogawa, M., Abe, S., Okazaki, F., Kitano, S., Miyachi, H., Yamada, H., Hara, T., Yoshikai, Y., Nagasawa, T., Schütz, G., and Ikuta, K. (2018). Glucocorticoids drive diurnal oscillations in T cell distribution and responses by inducing interleukin-7 receptor and CXCR4. *Immunity*, 48: 286-298、[査読有](#)

DOI: 10.1016/j.immuni.2018.01.004.

Nakamizo, S., Honda, T., Adachi, A., Nagatake, T., Kunisawa, J., Kitoh, A., Otsuka, A., Dainichi, T., Nomura, T., Ginhoux, F., Ikuta, K., Egawa, G., and Kabashima, K. (2017). High fat diet exacerbates murine psoriatic dermatitis by increasing the number of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells. *Sci. Rep.*, 7: 14076、[査読有](#)

DOI: 10.1038/s41598-017-14292-1.

Gomes, A. C., Hara, T., Lim, V. Y., Herndler-Brandstetter, D., Nevius, E., Sugiyama, T., Tani-ichi, S., Schlenner, S., Richie, E., Rodewald, H., Flavell, R. A., Nagasawa, T., Ikuta, K., and Pereira, J. P. (2016). Hematopoietic stem cell niches produce lineage-instructive signals to control multipotent progenitor differentiation. *Immunity*, 45: 1219-1231、[査読有](#)

DOI: 10.1016/j.immuni.2016.11.004.

Gil-Cruz, C., Perez-Shibayama, C., Onder, L., Chai, Q., Cupovic, J., Cheng, H., Novkovic, M., Lang, P. A., Geuking, M. B., McCoy, K. D., Abe, S., Cui, G., Ikuta, K., Scandella, E., and Ludewig, B. (2016). Fibroblastic reticular cells regulate intestinal inflammation through IL-15-mediated control of group 1 ILCs. *Nat. Immunol.*, 17: 1388-1396、[査読有](#)

DOI: 10.1038/ni.3566.

Shinoda, K., Hirahara, K., Inuma, T., Ichikawa, T., Suzuki, A. S., Sugaya, K., Tumes, D. J., Yamamoto, H., Hara, T., Tani-ichi, S., Ikuta, K., Okamoto, Y., and Nakayama, T. (2016). Thy-1⁺IL-7⁺ lymphatic endothelial cells in iBALT provide a survival niche for memory T-helper cells in allergic

airway inflammation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 113 (20): E2842-2851、[査読有](#)
DOI: 10.1073/pnas.1512600113.

Terashima, A., Okamoto, K., Nakashima, T., Akira, S., [Ikuta, K.](#) and Takayanagi, H. (2016). Sepsis-induced osteoblast ablation causes immunodeficiency. Immunity, 44: 1434-1443、[査読有](#)
DOI:10.1016/j.immuni.2016.05.012.

[学会発表](計19件)

Shimba, A., Cui, G., and [Ikuta, K.](#) Glucocorticoids drive diurnal changes in distribution and response of T cells via IL-7 receptor expression、第46回日本免疫学会学術集会、仙台、2017年12月14日

Cui, G., Shimba, A., Zhu, Y., [Tani-ichi, S.](#), Hara, T., and [Ikuta, K.](#) Competition between STAT5 and PI3K of the IL-7R modulates T cell and type 2 ILC development in vivo、第46回日本免疫学会学術集会、仙台 2017年12月14日

[Tani-ichi, S.](#), and [Ikuta, K.](#) Exploring the signals upregulating IL-7R α expression via NF κ B activation in T cells、第46回日本免疫学会学術集会、仙台、2017年12月14日

岡崎史恵、榛葉旭恒、崔広為、生田宏一
グルココルチコイドはIL-7受容体の発現を介してT細胞の体内分布および活性化の日内変動を制御する、ConBio2017(生命科学系学会合同年次大会) 神戸、2017年12月6日

Terashima, A., Okamoto, K., Nakashima, T., [Ikuta, K.](#), and Takayanagi, H. Osteoblasts mediate immunosuppression during sepsis by regulating lymphopoiesis. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society. Kanazawa, October 29 – November 2, 2017.

Shimba, A., Cui, G., [Tani-ichi, S.](#), Hara, T., and [Ikuta, K.](#) Regulation of IL-7 receptor expression by a proximal enhancer. KTCC 2017. Kyoto, March 16, 2017.

Cui, G., Shimba, A., [Tani-ichi, S.](#), Hara, T., and [Ikuta, K.](#) Competitive signaling between STAT5 and PI3K of IL-7R modulates T cell development and homeostasis in vivo. KTCC 2017. Kyoto, March 15-17, 2017.

Hara, T., and [Ikuta, K.](#) Identification of bone marrow IL-7 niche critical for B lymphopoiesis. KTCC 2017. Kyoto, March

15-17, 2017.

[Ikuta, K.](#) Roles of IL-7 in development and response of the immune system. The 11th International Symposium of the Institute Network. Tokushima, January 27, 2017.

[Tani-ichi, S.](#), and [Ikuta, K.](#) IL-7R α signaling upregulates growth hormone signaling-related gene in naive T cells. Keystone Symposium: Integrating Metabolism and Immunity. Dublin, June 1, 2017.

Shimba, A., and [Ikuta, K.](#) Glucocorticoids drive circadian changes in T-cell homing and response via IL-7 receptor. Immunology 2017 (AAI). Washington D.C., May 15, 2017.

寺島明日香、岡本一男、審良静男、[生田宏一](#)、高柳広：Immunodeficiency caused by sepsis-induced osteoblast ablation、第45回日本免疫学会学術集会、宜野湾、2016年12月7日

阿部真也、原崇裕、崔広為、[生田宏一](#)：Identification of IL-15 niche for NK cells in bone marrow、第45回日本免疫学会学術集会、宜野湾、2016年12月7日

崔広為、榛葉旭恒、阿部真也、朱媛博、向平妃沙、[谷一靖江](#)、原崇裕、[生田宏一](#)：Local function of the IL-15 niche in thymus、第45回日本免疫学会学術集会、宜野湾、2016年12月7日

崔広為、榛葉旭恒、朱媛博、小川真、[谷一靖江](#)、原崇裕、[生田宏一](#)：Competitive balance between STAT5 and PI3K signaling pathways of IL-7R modulates T cell development and homeostasis in vivo、第26回 Kyoto T Cell Conference、大津、2016年5月21日

原崇裕、[生田宏一](#)：骨髓におけるリンパ球分化を制御するIL-7産生ストローマ細胞の同定、第26回 Kyoto T Cell Conference、大津、2016年5月20日

榛葉旭恒、崔広為、阿部真也、朱媛博、向平妃沙、[谷一靖江](#)、原崇裕、[生田宏一](#)：Role of glucocorticoids in T cell homeostasis and T cell response、The 23rd East Asia Joint Symposium、台北、2016年10月19日

崔広為、榛葉旭恒、[谷一靖江](#)、原崇裕、[生田宏一](#)：Competitive signaling between STAT5 and PI3K of the IL-7R modulates T cell development and homeostasis in vivo、

International Congress of Immunology 2016、
メルボルン、2016年8月23日

谷一靖江、生田宏一：Role of TCR γ
enhancer 'E γ 4' for the development and
function of $\gamma\delta$ T cells、International Congress
of Immunology 2016、メルボルン、2016
年8月22日

〔その他〕

ホームページ等

http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2017/180124_1.html

ステロイドが免疫力を高める - 免疫の新たな昼夜サイクルを解明-

<http://www.infront.kyoto-u.ac.jp/achievements/post-2986/>

ステロイドが免疫力を高める?! - 免疫の新たな昼夜サイクルを解明-

<http://www.infront.kyoto-u.ac.jp/achievements/post-1160/>

多能性造血幹細胞からリンパ球までの分化を方向付ける骨髄ニッチの同定

6. 研究組織

(1) 研究代表者

生田 宏一 (IKUTA, Koichi)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号： 9 0 1 9 3 1 7 7

(2) 研究分担者

谷一 靖江 (TANI-ICHI, Shizue)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号： 5 0 4 3 2 3 3 1