

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02185

研究課題名(和文) 免疫システムの老化に関する研究

研究課題名(英文) Study of Immune aging

研究代表者

立川 愛 (Tachikawa, Ai)

国立感染症研究所・エイズ研究センター・室長

研究者番号：10396880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者で問題となる疾患の多くは、免疫学的制御の破綻と関連する。加齢とともに免疫老化と呼ばれる状態に至ることが明らかとなってきたが、その詳細なメカニズムは解明されていない。本研究では獲得免疫応答の中心であるT細胞に注目し、免疫老化における機能低下・異常のメカニズムを明らかにすることを目的とした。免疫老化が病態の本質であるHIV感染症をモデルとして、HIV感染者由来のCD4陽性メモリーT細胞について、網羅的なDNAメチル化解析を行ない、免疫老化の進んでいると考えられる群では脱メチル化が亢進していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、免疫システムの司令塔であるT細胞に焦点を絞り、免疫老化に伴い起こる変化について解析を行い、ゲノムDNAにエピジェネティックな変化が生じていることを明らかにした。本研究を行うことによって、高齢者や免疫学的弱者における感染症や各種疾患に対する予防法の開発に向け基礎的知見を提供することで、超高齢化社会を迎えつつある我が国での健康維持と医療費の削減に貢献することができる。

研究成果の概要(英文)：Many diseases that become severe problem in elderly people are considered to associate with immunological disruption. As it has become clear that our immune system becomes senescent with aging and lose intact protection to infectious diseases and the ability to control various diseases, the detailed mechanism of immune aging has not been clarified. Our aim of this study is to elucidate molecular mechanisms of immune aging. As HIV infection promotes immune aging, we used HIV-infected patients as a model of elderly people. We focused on T cells which has critical roles for acquired immune responses. We performed comprehensive DNA methylation analysis on CD4+ memory T cells, and found the DNA methylation status was different between the groups with different immunological status, and the DNA methylation frequencies were associated with gene expression in the proximal genes. These data suggest the epigenetic regulation is modulated during immune aging.

研究分野：感染免疫学

キーワード：免疫老化 感染症 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えつつある我が国にとって、健康に歳を取ること、すなわち高齢者で問題となる疾患への罹患を最小限に抑えることが個人の幸福のみならず、我が国の重要課題の一つである医療費削減に最も効果的な方法である。高齢者で問題となる疾患の多くは免疫学的異常との関連が指摘されており、動脈硬化、心血管疾患、癌、肝炎、骨塩量の低下などの疾患は慢性炎症などの免疫学的制御の破綻との関連が強く疑われている。免疫応答は加齢とともにその正常な機能が失われ、「免疫老化」と呼ばれる状態に至ると考えられ、実際に各種感染症は重症化しやすく、ワクチンに対する応答性も低下している。免疫老化における機能低下や異常の分子メカニズムを明らかにすることで、高齢者の感染症に対するリスクの低減、問題となる各種疾患への罹患予防を目的とした新たな医学的介入につながることを期待される。しかしながら、免疫老化に関する研究はようやく始まったところであり、その分子メカニズムは未だ解明されていない。

HIV 感染症は抗 HIV 薬による治療を行わなければ後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症する致死的疾患である。免疫システムの破綻が病態の本質であること、またその重篤さにより HIV 感染者における免疫機能の解析は、世界中の研究者により勢力的に行われてきた。その結果、HIV 感染者では、高活性化状態や炎症性サイトカインの上昇など多くの免疫学的特徴が、高齢者と共通していることが明らかとなってきた。また高齢者で罹患リスクの高い各種疾患は、若年の HIV 感染者においても高頻度に見られる。私たちは、これまでに免疫応答で中心的役割を担う T 細胞に焦点を絞り、HIV 感染者における免疫老化の研究を行い、HIV 感染者ではサイトカイン産生能等の T 細胞機能が低下していること、その機能低下は、T 細胞の活性化マーカーや老化マーカーの発現レベルと強く相関することを明らかにした。このような免疫老化現象は、血中 HIV 量 (VL) の高い Non-controller と呼ばれる病態進行の早い感染者で顕著に観察される。これらの現象を考え合わせると、炎症反応や免疫応答が免疫老化を促進する要因と捉えることができる。我々は日常的に様々な微生物等の抗原に曝され、免疫システムは常に生体防御機構として働いているため、加齢に伴い、免疫学的負荷は累積されると考えられる。実際に、多くの健常人が不顕性感染しているサイトメガロウイルス(CMV)への感染の有無が免疫老化レベルと強く相関する(慢性 CMV 感染がある人は感染していない同年齢の人に比べて免疫老化が亢進している)、HIV 感染者、特に高い血中 HIV 量を呈する感染者は、持続的に大量の HIV 抗原に暴露されており、非感染者や血中 HIV 量の低い感染者と比較して免疫学的負荷が大きく、免疫学的に早く老化していると考えることができ、実際に免疫老化状態にあることが、近年明らかとなってきた。HIV 感染症は、免疫老化の疾患モデルとして位置付けることができ、感染者は各種臨床検査による病態モニタリングのため定期的に通院する。そのため、臨床像や臨床経過について詳細な情報が入手可能であるため、本研究で研究対象として用いることとした。

2. 研究の目的

本研究では、免疫老化が病態の本質である HIV 感染症をモデルとして、HIV 感染者由来 T 細胞を用いて網羅的なエピジェネティック解析を行い、免疫老化状態で見られる分子レベルでの変化を明らかにする。本研究により老化現象の多くに関連する「免疫老化」における T 細胞異常の分子機序を明らかにすることで、老化現象の本質に迫ると同時に、高齢者における感染症や各種疾患に対する予防法の開発に向けた基礎基盤を示すことができる。

3. 研究の方法

本研究では、免疫状態の異なる HIV 感染者間で比較解析を行うこととし、エピジェネティック解析として DNA メチル化解析を行った。末梢血中には分化段階や機能の異なる多様な T 細胞が存在し、その DNA メチル化状態も様々である。加齢や HIV 病態進行に伴い各分化段階 T 細胞の存在比率が変化することが明らかであるため、本研究では分化段階毎に分画した細胞を用いることとした。免疫老化状態にある血中 VL の高い Non-controller (NC) 群と、血中 VL の低い Controller (C) 群、また治療 (Tx) 群を対象とし、凍結保存末梢血単核球を用いて、CD4⁺T 細胞から、セルソーターを用いてソーティングを行い、naive (N, CD45RA⁺/CCR7⁺/CD27⁺/CD28⁺), central memory (CM, CD45RA⁻/CCR7⁺/CD27⁺/CD28⁺), early effector memory (E-EM) CD4⁺T 細胞(CD45RA⁻/CCR7⁻/CD27⁺/CD28⁺)を分取し、genomic DNA を抽出した。我々の先行研究にて NC 群と C 群で

IL-2 遺伝子のメチル化状態に有意な違いが見られた E-EM 分画の genomic DNA を用いてメチローム解析を行った。HIV 感染者由来の臨床検体からの E-EM CD4⁺T 細胞は数が限られているため、少量 DNA から実施可能な、RRBS (Reduced Representation Bisulfite Sequencing)法にてメチローム解析を行なった。

4 . 研究成果

まず、NC 群と C 群の E-EM CD4⁺T 細胞由来 DNA を用いて RRBS 法にてメチローム解析を行なった。群間でメチル化頻度に有意な差が見られ、その差が 25%以上の DNA メチル化部位(CpG 部位)を DMS (differentially methylated sites)とした。DMS は promoter 領域、CpG island/shore 領域に高頻度に検出されており、またヒストン修飾や転写因子結合部位に高頻度に検出された。これらの結果から、RRBS 法では実際に遺伝子発現制御に関連する DNA メチル化部位を効率よく濃縮可能であることが示された。DMS のうち、NC 群でメチル化頻度が有意に低い CpG 部位が 60%以上を占めており、NC 群では脱メチル化が亢進していることが明らかとなった。

網羅的メチル化解析の結果をさらに検証するため、連続して DMS が確認された複数の領域について、NC 群、C 群に加えて治療により HIV をコントロールしている Tx 群の genomic DNA を用いて、解析検体数を増やし、各領域毎に Bisulfite sequencing を行なった。その結果、複数の領域において、いずれも C 群では CpG 部位がほぼメチル化されていたが、NC 群ではメチル化頻度が有意に低く、また Tx 群においては、両群の中間程度のメチル化状態であった。さらに、今回見出された DMS のメチル化が、実際に近傍遺伝子の発現制御に関連しているか明らかにするため、各 DMS 領域の最も近傍にある遺伝子の発現解析を定量 RT-PCR により行ったところ、DMS におけるメチル化頻度と近傍遺伝子の発現レベルは逆相関していた。これらの結果から、免疫老化状態の異なる群間でメチル化状態が異なる CpG 部位において、過半数以上で免疫老化が進んでいる群でメチル化頻度が低く、実際に近傍遺伝子の発現が亢進していることが明らかとなった。

一方で、フローサイトメトリーによる解析で、NC 群の T 細胞では定常状態での疲弊のマーカーである PD-1 や細胞老化のマーカーである CD57 の発現が C 群に比して高く、また活性化により発現が上昇する CD25 や OX40 などの T 細胞表面分子も、試験管内刺激による活性化後の発現が C 群に比して高いことも明らかにしてきた。これらを考え合わせると、免疫老化状態では、DNA 脱メチル化が亢進する傾向にあり、抗原刺激に対して容易に遺伝子発現が上昇可能な状態、活性化しやすい状態にあることが示唆された。すなわち、免疫老化状態における T 細胞の免疫機能低下は、各種遺伝子発現の減少に必ずしも起因するのではなく、適切な遺伝子発現制御の破綻による可能性が示唆された。現在世界中に深刻なパンデミックを引き起こしている新型コロナウイルス感染症において、高齢者での重症化が顕著であり、その機序は過剰な免疫反応であることが明らかになりつつあり、本研究結果と矛盾するものではない。本研究をさらに発展させることで、免疫老化遅延につながる新たな予防・治療戦略につなげたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Higaki Kei, Hirao Masako, Kawana-Tachikawa Ai, Iriguchi Shoichi, Kumagai Ayako, Ueda Norihiro, Bo Wang, Kamibayashi Sanae, Watanabe Akira, Nakauchi Hiromitsu, Suzuki Kazuo, Kaneko Shin	4. 巻 12
2. 論文標題 Generation of HIV-Resistant Macrophages from iPSCs by Using Transcriptional Gene Silencing and Promoter-Targeted RNA	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 793 ~ 804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2018.07.017	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 NISHIYAMA-FUJITA YURIKO, KAWANA-TACHIKAWA AI, ONO TOSHIKI, TANAKA YUKIE, KATO TAKAFUMI, HESLOP HELEN E., MORIO TOMOHIRO, TAKAHASHI SATOSHI	4. 巻 20
2. 論文標題 Generation of multivirus-specific T cells by a single stimulation of peripheral blood mononuclear cells with a peptide mixture using serum-free medium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cytotherapy	6. 最初と最後の頁 1182 ~ 1190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcyt.2018.05.009	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 Tsukamoto Tetsuo, Yamamoto Hiroyuki, Matano Tetsuro	4. 巻 4
2. 論文標題 CD8+ Cytotoxic-T-Lymphocyte Breadth Could Facilitate Early Immune Detection of Immunodeficiency Virus-Derived Epitopes with Limited Expression Levels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 mSphere	6. 最初と最後の頁 e00381-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mSphere.00381-18	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 Hau Trang Thi Thu, Nakamura-Hoshi Midori, Kanno Yoshiaki, Nomura Takushi, Nishizawa Masako, Seki Sayuri, Ishii Hiroshi, Kawana-Tachikawa Ai, Hall William W., Nguyen Thi Lan Anh, Matano Tetsuro, Yamamoto Hiroyuki	4. 巻 512
2. 論文標題 CD8+ T cell-based strong selective pressure on multiple simian immunodeficiency virus targets in macaques possessing a protective MHC class I haplotype	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 213 ~ 217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.03.003	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 該当する

1. 著者名 1. Ono T, Fujita Y, Matano T, Takahashi S, Morio T, Kawana-Tachikawa A	4. 巻 71
2. 論文標題 Characterization of in vitro expanded virus-specific T cells toward adoptive immunotherapy against virus infection.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 122-128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.7883/yoken.JJID.2017.500	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 -

1. 著者名 Shi Yi, Kawana-Tachikawa Ai, Gao Feng, Qi Jianxun, Liu Chuansheng, Gao Jia, Cheng Hao, Ueno Takamasa, Iwamoto Aikichi, Gao George F.	4. 巻 91
2. 論文標題 Conserved V 1 Binding Geometry in a Setting of Locus-Disparate pHLA Recognition by / T Cell Receptors (TCRs): Insight into Recognition of HIV Peptides by TCRs	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e00725 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.00725-17	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 該当する

1. 著者名 Seki Sayuri, Nomura Takushi, Nishizawa Masako, Yamamoto Hiroyuki, Ishii Hiroshi, Matsuoka Saori, Shiino Teiichiro, Sato Hironori, Mizuta Kazuta, Sakawaki Hiromi, Miura Tomoyuki, Naruse Taeko K., Kimura Akinori, Matano Tetsuro	4. 巻 13
2. 論文標題 In vivo virulence of MHC-adapted AIDS virus serially-passaged through MHC-mismatched hosts	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1006638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1006638	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 -

1. 著者名 Tanaka, M., Ishikawa, S., Ushiku, T., Morikawa, T., Isagawa, T., Yamagishi, M., Yamamoto, H., et al. (14名中7番目)	4. 巻 8
2. 論文標題 EVI1 modulates oncogenic role of GPC1 in pancreatic carcinogenesis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 99552-99566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.20601	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 -

1. 著者名 Ishii Hiroshi, Terahara Kazutaka, Nomura Takushi, Takeda Akiko, Okazaki Midori, Yamamoto Hiroyuki, Tokusumi Tsuyoshi, Shu Tsugumine, Matano Tetsuro	4. 巻 94
2. 論文標題 A Novel Immunogen Selectively Eliciting CD8+ T Cells but Not CD4+ T Cells Targeting Immunodeficiency Virus Antigens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01876-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01876-19	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 Adusei-Poku Mildred A., Matsuoka Saori, Bonney Evelyn Y., Abana Christopher Z., Duker Ewurabena O., Nii-Trebi Nicholas I., Ofori Sampson B., Mizutani Taketoshi, Ishizaka Aya, Shiino Teiichiro, Kawana-Tachikawa Ai, Ishikawa Koichi, Ampofo William K., Matano Tetsuro	4. 巻 72
2. 論文標題 Human Leukocyte Antigen-Associated HIV-1 CRF02_AG <i>gag</i> and <i>vif</i> Polymorphisms in Ghana	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 374 ~ 380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2019.201	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 該当する

1. 著者名 Takahashi Naofumi, Matsuoka Saori, Thi Minh Tam Tran, Ba Hien Pham, Naruse Taeko K., Kimura Akinori, Shiino Teiichiro, Kawana-Tachikawa Ai, Ishikawa Koichi, Matano Tetsuro, Nguyen Thi Lan Anh	4. 巻 21
2. 論文標題 Human leukocyte antigen-associated gag and nef polymorphisms in HIV-1 subtype A/E-infected individuals in Vietnam	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbes and Infection	6. 最初と最後の頁 113 ~ 118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.micinf.2018.10.001	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 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 立川(川名)愛、細谷(中山)香、関真秀、堀内映実、佐藤秀憲、古賀道子、鯉淵智彦、四柳宏、吉村幸浩、立川夏夫、鈴木稯、俣野哲朗
2. 発表標題 HIV感染におけるメモリーCD4+T細胞のメチローム解析.
3. 学会等名 第32回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 立川(川名) 愛
2. 発表標題 NGS法HLA解析のHIV及び関連疾患研究への応用
3. 学会等名 1. 第26回日本組織適合性学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ai Kawana-Tachikawa
2. 発表標題 Development of T-cell based immunotherapy for HIV cure
3. 学会等名 United States-Japan Cooperative Medical Sciences Program 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, AIDS Panel (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ai Kawana-Tachikawa
2. 発表標題 T cell aging at molecular level during HIV infection
3. 学会等名 France-Japan Symposium on HIV and hepatitis basic research. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立川(川名)愛、細谷(中山)香、関真秀、堀内映実、古賀道子、四柳宏、吉村幸浩、立川夏夫、鈴木穰、俣野哲朗
2. 発表標題 HIV感染でのT細胞老化とDNAメチル化による発現制御
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamamoto H, Kuwata T, Matsuoka S, Ishii H, Sekizuka T, Kuroda M, Matsushita S, Seki Y, Sakawaki H, Miura T, Akari H, Matano T
2. 発表標題 Induction of cross-reactive simian immunodeficiency virus-specific neutralizing antibodies in macaques possessing specific germline B cell receptors
3. 学会等名 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, AIDS Panel Agenda (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamamoto H
2. 発表標題 Neutralizing antibodies against SIVmac239: T-cell synergism in protection and induction
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hau TTT, Nomura T, Matano T, Yamamoto H
2. 発表標題 Nef-specific cytolytic CD4+ T-cell responses in a viremic SIV controller receiving acute-phase neutralizing antibody passive infusion
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 分担者	山本 浩之 (YAMAMOTO HIROYUKI) (80574615)	国立感染症研究所・エイズ研究センター・室長 (82603)	