

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02636

研究課題名(和文)新規T細胞サブセットを標的とした自己免疫制御法の確立

研究課題名(英文) Establishment of regulation for autoimmune diseases targeting new T cell subsets

研究代表者

小松 紀子 (Komatsu, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：20553358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 16,200,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチをはじめとする自己免疫疾患は根本的な治療法が存在せず、病態理解に基づいた治療法の確立が喫緊の課題である。本研究では関節リウマチのマウスモデルを使用し、我々が同定した病原性T細胞と、このT細胞と相互作用する滑膜線維芽細胞に着眼し、それぞれの病原性を形成する分子基盤の解明を目指した。滑膜線維芽細胞が関節破壊を誘導する主要な細胞であることを生体レベルで実証し、病原性T細胞と滑膜線維芽細胞の協調作用の重要性を明らかにした。さらに病原性T細胞の候補標的因子や関節破壊性の滑膜線維芽細胞が作られるしくみの一端を明らかにした。本研究で得られた知見は新規治療法の確立に貢献すると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫疾患のメカニズムはまだまだ不明な点が多く根本的な治療法が存在しない。本研究では代表的な自己免疫疾患である関節リウマチにおいて、病原性を発揮するT細胞と、炎症関節部位に特異的に存在し病原性T細胞と相互作用をする間葉系細胞に着眼し、両者の病原性をつかさどる分子基盤の一端を明らかにした。さらに本研究で樹立した研究基盤を活用し、関節リウマチの骨破壊の一形態である傍関節性骨粗鬆症の機構の解明に繋げた。したがって本研究成果は関節リウマチをはじめとする自己免疫疾患の病態理解と治療法の開発に貢献する知見を提供するものとして意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, it is urgently necessary to establish novel fundamental therapies based on understanding the mechanism. In this study, we aimed to clarify the molecular mechanisms that govern the pathogenic T cells we identified previously as well as synovial fibroblasts which interact with the pathogenic T cells. By genetic analysis, we proved that synovial fibroblasts are primary cells that induce bone erosion in arthritis in vivo, suggesting the importance of the pathogenic T-synovial fibroblast axis in arthritis. We further clarified a part of the molecular mechanisms that explain pathogenic T cells and synovial fibroblasts. This study will contribute to the establishment of novel therapies for autoimmune diseases including rheumatoid arthritis.

研究分野：免疫学

キーワード：自己免疫疾患 関節リウマチ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

T細胞は免疫の司令塔としてはたらく免疫細胞であり、自己免疫疾患の病態形成に重要な役割を果たす。とりわけ免疫応答を促進するヘルパーT細胞と抑制する制御性T細胞のバランスの破綻が関節リウマチをはじめとする自己免疫疾患の進行の鍵を握ると考えられる。その破綻機構をはじめ自己免疫疾患のメカニズムは未だ解明されておらず、根本的な治療法は確立されていない。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでに自己免疫性関節炎や歯周炎において炎症と骨破壊を増悪化する病原性T細胞を同定した。この病原性T細胞は、組織特異的な間葉系細胞によって誘導され、間葉系細胞の破骨細胞誘導因子RANKLの発現を増強し破骨細胞誘導能を亢進させる。しかしながらそのT細胞サブセットや間葉系細胞の病原性を司る分子基盤は不明である。本研究では自己免疫性関節炎において病原性T細胞サブセット、およびこのT細胞サブセットと協調作用する組織特異的な間葉系細胞である滑膜線維芽細胞に焦点を当て、その分化と機能を司る分子基盤を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. 病原性T細胞の病原性をつかさどる分子基盤の解明

病原性T細胞のRNAシーケンスを行い遺伝子発現を網羅的に調べるとともに遺伝子改変マウスの作製などにより生体レベルでの解析を進めた。さらに関節炎の早期に重要な役割を果たすT細胞発現遺伝子に着目し、網羅的トランスクリプトーム解析のデータベースの統合を行い、関節炎発症早期に発現が上昇し、治療によって発現が減少するT細胞発現遺伝子群の同定を試みた。

3-2. 関節破壊をひき起こす滑膜線維芽細胞の病原性を司る分子基盤の解明

関節破壊を引き起こす主要な細胞種の同定のため、T細胞、B細胞系列、滑膜線維芽細胞特異的にRANKLを欠損させたマウスを自己免疫性関節炎感受性のマウス系統においてそれぞれ作製し、自己免疫性関節炎を誘導して関節破壊を評価した。関節破壊を誘導する滑膜線維芽細胞に焦点を当て、ATAC-seq,ChIP-seq,Luciferase assay,CRISPR/Cas9による遺伝子欠損マウスの作製などの手法を利用して、破骨細胞誘導因子RANKLの発現制御機構の検討を行った。

3-3. 関節リウマチの骨破壊の新しいメカニズムの提唱～傍関節性骨粗鬆症の機構の解明～

本研究で構築した実験系であるT細胞、B細胞系列、滑膜線維芽細胞特異的にRANKLを欠損させたマウスを活用し、関節リウマチの骨破壊の一形態であり関節炎の臨床所見に先立って認められる傍関節性骨粗鬆症におけるRANKL発現細胞の探索とその病理的意義の検討を行った。

4. 研究成果

4-1. 病原性T細胞の機能をつかさどる分子基盤の解明

病原性T細胞の病原性をつかさどる分子基盤の解明のため、RNAシーケンスを行い、病原性T細胞特異的に発現する細胞表面分子や転写因子を複数同定した。遺伝子改変マウスを用いて生体レベルでの解析を進め、遺伝子改変マウスでは自己免疫疾患を抑制するという予備的な知見が得られた。また、関節炎の早期に重要な役割を果たすT細胞発現遺伝子に着目し、網羅的トランスクリプトーム解析のデータベースの統合を行い、関節炎発症早期に発現が上昇し、治療によって発現が減少するT細胞発現遺伝子群を同定することに成功した。その中の一つの遺伝子に関し遺伝子欠損マウスを作成したところ自己免疫性関節炎が抑制されることを見出され、同定したT細胞発現遺伝子リストの有用性が示唆された。

4-2. 病原性T細胞と相互作用する、関節破壊性の滑膜線維芽細胞を形成する分子基盤の解明

滑膜線維芽細胞にRANKLを欠損させたマウスでのみ関節破壊が抑制されたことから、自己免疫性関節炎の関節破壊において間葉系細胞である滑膜線維芽細胞が主要な破骨細胞誘導細胞であることが実証され、病原性T細胞と滑膜線維芽細胞の協調作用の重要性が明らかになった(Komatsu et al J Clin Invest, 2021)。そこで関節破壊性の滑膜線維芽細胞に着目し、ATAC-seq,ChIP-seq,Luc assayによりRANKLの発現を制御するエンハンサー領域を複数同定した。エンハンサー領域欠損マウスを複数作製して関節炎を誘導し、特定のエンハンサー領域欠損マウスでは滑膜線維芽細胞のRANKL発現や関節破壊が抑制されたことから、関節破壊性の滑膜線維芽細胞

の形成に必須なエンハンサー領域を同定することに成功した。

4-3. 関節リウマチの骨破壊の新しいメカニズムの提唱～傍関節性骨粗鬆症の機構～

本研究で構築した実験系を利用して、関節リウマチの臨床所見に先立って認められる骨破壊の一形態である傍関節性骨粗鬆症の機構の解明に取り組んだ。自己免疫性関節炎を誘導したマウスの関節近傍の骨髄中において形質細胞が B 細胞より高い RANKL 発現を有することを見出した。試験管内での解析により形質細胞は B 細胞よりも強力に RANKL 依存的に破骨細胞分化誘導能をもつことが明らかとなった。関節炎を発症する以前から関節近傍の骨髄における形質細胞が増加すること、B 細胞系列特異的 RANKL 欠損マウスでは傍関節性骨粗鬆症や破骨細胞形成が抑制されることを見出した。以上より関節近傍の骨髄の形質細胞が RANKL を発現することで傍関節性骨粗鬆症を促進することが明らかとなった。

以上の研究により、滑膜線維芽細胞が関節破壊を誘導する主要な細胞であることを生体レベルで実証し、病原性 T 細胞と滑膜線維芽細胞の協調作用の重要性を明らかにした。さらに病原性 T 細胞の候補標的因子や関節破壊性の滑膜線維芽細胞が作られるしくみの一端を明らかにした。さらに本研究で樹立した研究基盤を活用し、関節リウマチの骨破壊の一形態である傍関節性骨粗鬆症を形質細胞が促進することを明らかにした。今後は得られた知見をもとに病原性細胞が形成されるメカニズムのさらなる解明に取り組む予定である。本研究成果は関節リウマチをはじめとする自己免疫疾患の病態理解と治療法の開発に繋がる知見を提供するものとして意義があると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Komatsu N, Win S, Yan M, Huynh CN N, Sawa S, Tsukasaki M, Terashima A, Pluemsakunthai W, Kollias G, Nakashima T and Takayanagi H	4. 巻 131
2. 論文標題 Plasma cells promote osteoclastogenesis and periarticular bone loss in autoimmune arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Invest.	6. 最初と最後の頁 1,8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI143060.	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 Tsukasaki M, Huynh NC, Okamoto K, Muro R, Terashima A, Kurikawa Y, Komatsu N, Pluemsakunthai W, Nitta T, Abe T, Kiyonari H, Okamura T, Sakai M, Matsukawa T, Matsumoto M, Kobayashi Y, Penninger JM, Takayanagi H	4. 巻 2
2. 論文標題 Stepwise cell fate decision pathways during osteoclastogenesis at single-cell resolution.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Metab.	6. 最初と最後の頁 1382,1390
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42255-020-00318-y.	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 Tsukasaki M, Asano T, Muro R, Huynh NC, Komatsu N, Okamoto K, Nakano K, Okamura T, Nitta T, Takayanagi H	4. 巻 32
2. 論文標題 OPG Production Matters Where It Happened.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 1,10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2020.108124.	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 Takahashi D, Hoshina N, Kabumoto Y, Maeda Y, Suzuki A, Tanabe H, Isobe J, Yamada T, Muroi K, Yanagisawa Y, Nakamura A, Fujimura Y, Saeki A, Ueda M, Matsumoto R, Asaoka H, Clarke JM, Harada Y, Umemoto E, Komatsu N, Okada T, Takayanagi H, Takeda K, Tomura M, Hase K	4. 巻 58
2. 論文標題 Microbiota-derived butyrate limits the autoimmune response by promoting the differentiation of follicular regulatory T cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine.	6. 最初と最後の頁 1,18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ebiom.2020.102913.	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 Noriko Komatsu, Hiroshi Takayanagi	4. 巻 194
2. 論文標題 Immune-bone interplay in the structural damage in rheumatoid arthritis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Immunology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cei.13188.	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 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小松紀子、高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎における細胞特異的RANKL発現の病理的意義
3. 学会等名 日本リウマチ学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 RA 適応系免疫の骨破壊制御
3. 学会等名 2019 Seminar Immunology RA (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚崎雅之, 小松 紀子, Warunee Pluemsakuntha, 中島友紀, 高柳広
2. 発表標題 骨外膜間葉系前駆細胞の機能に必須の遺伝子Hmtfの同定
3. 学会等名 第5回日本骨免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松紀子, Yan Minglu, 中島友紀、高柳広
2. 発表標題 自己免疫性関節炎における関節破壊誘導細胞の同定
3. 学会等名 第6回JCRベーシックリサーチカンファレンス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚崎雅之, 小松 紀子, Warunee Pluemsakuntha, 高柳 広
2. 発表標題 骨膜幹細胞による骨成長制御
3. 学会等名 第5回日本骨免疫学会ウィンタースクール
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小松紀子
2. 発表標題 自己免疫疾患を制御する新規T細胞サブセットの同定とその存在意義の解明
3. 学会等名 大澤先生10周年記念同窓会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小松 紀子
2. 発表標題 骨破壊性T細胞による生体防御機構
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会 学術集会（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小松 紀子、Lynett Danks, 中島 友紀、高柳 広
2. 発表標題 RANKLを発現する滑膜線維芽細胞の関節炎の骨破壊における意義
3. 学会等名 第4回日本骨免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小松 紀子
2. 発表標題 骨破壊性 T 細胞による生体防御機構
3. 学会等名 第19回運動器科学研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小松 紀子
2. 発表標題 骨破壊性T細胞による生体防御機構
3. 学会等名 日本リウマチ学会 第5回ベーシックリサーチカンファレンス (招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚崎 雅之、小松 紀子、関 侑華、Warunee Pluemsakunthai、高柳 広
2. 発表標題 骨外膜間葉系前駆細胞の機能に必須の遺伝子Hmtfの同定
3. 学会等名 第4回日本骨免疫学会 ウィンターセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松 紀子
2. 発表標題 Foxp3 + T細胞の分化可塑性と病理学的意義の解明
3. 学会等名 第3回個体の中の細胞社会学ワークショップ(招待講演)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松 紀子
2. 発表標題 自己免疫疾患を制御する新規T細胞サブセットの同定とその存在意義の解明
3. 学会等名 日本医学会連合「Rising Star」リトリート
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 小松紀子	4. 発行年 2020年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 5
3. 書名 Bio Clinica	

1. 著者名 Komatsu Noriko, and Takayanagi Hiroshi	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Academic press	5. 総ページ数 8
3. 書名 Encyclopedia of Bone Biology	

1. 著者名 小松 紀子、高柳 広	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 1277 (1217-1222)
3. 書名 医学のあゆみ/関節リウマチにおける制御性T細胞	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------