

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K16159

研究課題名（和文）「Treg抵抗性T細胞」を標的とした免疫学的寛解治療開発の基盤研究

研究課題名（英文）Foundational Study on Immunological Remission Therapy Targeting Treg-Resistant T Cells

研究代表者

前田 伸治（Maeda, Shinji）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：80381854

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、リウマチ・膠原病疾患における自己免疫寛容の再構築とドラッグフリー寛解の達成を目指し、IL-2・IL-2抗体複合体を投与したヒト化マウスモデルを用いて、炎症性多機能性T細胞（PFC-T cells）とTregの相互作用とバランスの調節法を詳細に分析しました。特に、IL-2による持続的な刺激とT細胞受容体抗原シグナルの調節が、炎症抑制と免疫調節のバランスにおいて重要な役割を果たしていることが確認されました。これらの結果は、自己免疫疾患の根本的な治療法の開発に向けた新たな治療標的の同定に貢献するものであり、将来的な臨床応用に向けた基盤を提供します。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、自己免疫疾患治療の新たな可能性を開拓しました。特に、炎症性多機能性T細胞の調節に焦点を当てることで、ドラッグフリー寛解の達成へとつながる治療戦略の基盤になる成果です。将来的に自己免疫疾患患者の治療の向上に寄与するだけでなく、治療コストの削減にも繋がりを、基礎研究と臨床応用の架け橋としての役割も果たしています。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to reconstruct autoimmune tolerance and achieve drug-free remission in rheumatic and collagen diseases. Using a humanized mouse model treated with IL-2 and IL-2 antibody complex, we analyzed in detail the interaction and balance between polyfunctional T cells (PFC-T cells) and regulatory T cells (Tregs). Notably, we confirmed that sustained stimulation by IL-2 and the regulation of T cell receptor antigen signals play a crucial role in the balance between inflammation suppression and immune regulation. These findings contribute to the identification of new therapeutic targets for the fundamental treatment of autoimmune diseases and provide a foundation for future clinical applications.

研究分野：臨床免疫学 リウマチ学

キーワード：多機能性T細胞 IL-2 自己免疫疾患 ヒト化マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「Treg 抵抗性 T 細胞」を標的とした免疫学的寛解治療開発の基盤研究

リウマチ・膠原病疾患において自己免疫寛容の再構築の確立と、それによる Drug free 寛解の達成は究極の治療法となるが、具体的な標的細胞は未解明である。

2. 研究の目的

本研究において、ヒト化マウスモデル(ヒト T 細胞による炎症(xenogenicGVHD))を用いて、制御性 T 細胞(Treg)の抑制機能因子に抵抗性を持ち続ける炎症性 T 細胞を探索し、新規サブセットの同定を目指しました。この網羅的探索は、自己免疫疾患のドラッグフリー寛解達成に向けた新たな治療標的の開発に寄与することを目的としています。

3. 研究の方法

ヒト化 NOG マウスに 3×10^7 細胞を移植後、Day 7 に一時的な Treg の増加・活性化と、T 細胞全般を活性化させる目的で、IL-2/IL-2 antibody complex (IL-2cx, clone 5344) を投与しました。コントロール群には同様の条件で処理を行わず、Day 7 (xenogenic GVHD が明確になる前の時期)に両群から Splenocyte を採取しました。これらのサンプルを用いて、Flow cytometry および Mass Cytometry による多次元 T 細胞表現系解析を実施しました。解析には以下のマーカーを用いました：

表面抗原: CD3, CD4, CD8a, CD45RO, CD45RA, CD25, CD127, CXCR3, CCR4, CCR6, CD161, CCR5, CCR7, CXCR5, HLADR, CD38, CD28, OX40, Fas, TIM-3, PD-1, CTLA-4, ICOS, 4-1BB, LAG-3

細胞内サイトカイン: IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, MIP-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-17F

これらのマーカーを用いた詳細な表現型解析とサイトカインプロファイリングを通じて、炎症応答に関わる細胞群の挙動と機能的特性を解析し、High dimensional analysis を行いました。この分析により、炎症反応および免疫調節における細胞群のダイナミクスを詳細に評価しました。

4. 研究成果

インターフェロン- γ (IFN- γ)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、腫瘍壊死因子- α (TNF- α)、インターロイキン-2(IL-2)など、多種類の炎症性サイトカインを高産生する poly-functional T cells (多機能性 T 細胞、以下 PFC-T cells) が、T 細胞調節因子(Treg)の増加や CTLA-4Ig 治療下で著しく増加し、サイトカインストームを引き起こすことが確認されました。しかし、IL-2 受容体抗体を投与することによりこれらの細胞の活性は抑制され、IL-2 と IL-2 抗体複合体(IL-2cx)による慢性的な IL-2 受容体への刺激が、PFC-T cells の増加に必要であることが明らかになりました。次に、この系における T 細胞受容体シグナル、すなわち抗

原特異的シグナルの重要性について、MHC 発現を減弱させた NOG マウス (MHC NOG マウス) を用いて検討しました。 MHC NOG マウスで同様に作成した xGVHD の系に IL-2 / IL-2 抗体複合体を投与したところ、フローサイトメトリーによる解析で、主に TNF- α や IFN- γ を産生する多機能性 T 細胞が減少し、多機能性 T 細胞の増加は抑制されることがわかりました。持続的な IL-2 刺激と、xGVHD における T 細胞受容体への強いシグナルが、TNF- α や IFN- γ をはじめとする炎症性サイトカインの産生において多機能性 T 細胞の分化に重要であることが確認されました。さらに MHC NOG マウスにおいては、Treg (CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ T 細胞) が通常の NOG マウスの系と比較して増加しており、IL-2 の持続的な刺激下では、T 細胞受容体への刺激シグナルの減弱により Treg が増加することが確認されました。

MHC NOG マウスにおける PFC-T cells の減少と Treg の増加は、IL-2 の持続的な刺激のもとで強い T 細胞受容体 (TCR) シグナルを減弱させることにより、これらの細胞群のバランスが改善され、自己免疫寛容の促進が期待されることを示唆しています。この研究結果は、自己免疫疾患の治療においてドラッグフリー寛解を目指す上で、T 細胞の抗原シグナルや、IL-2 による活性化の制御が極めて重要であることを示しています。特に、PFC-T cells の管理と調節が新たな治療標的として有望であり、自己免疫疾患の根本的な治療への貢献が期待されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shinji Maeda, Satoshi Osaga, Tomoyo Maeda, Norihisa Takeda, Shin-ya Tamechika, Taio Naniwa, Akio Niimi	4. 巻 14
2. 論文標題 Circulating Th17.1 cells as candidate for the prediction of therapeutic response to abatacept in patients with rheumatoid arthritis: An exploratory research	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0215192
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0215192	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 Shinji Maeda, Hiroya Hashimoto, Tomoyo Maeda, Shin-Ya Tamechika, Shuntaro Isogai, Taio Naniwa, Akio Niimi	4. 巻 10
2. 論文標題 High-dimensional analysis of T-cell profiling variations following belimumab treatment in systemic lupus erythematosus	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lupus Science & Medicine	6. 最初と最後の頁 e000976
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/lupus-2023-000976	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 前田伸治, 為近真也, 前田智代, 磯谷俊太郎, 難波大夫
2. 発表標題 全身性エリテマトーデスにおけるBelimumab治療がもたらすT細胞免疫プロファイリング変化の高次元解析
3. 学会等名 第67回日本リウマチ学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Maeda Shinji, Isogai Shuntaro, Tamechika Shin-ya, Maeda Tomoyo, Naniwa Taio, Niimi Akio
2. 発表標題 Autoimmune diseases-Systemic-(Alteration of Tph/Treg and Th17/Treg balance in SLE patients by belimumab)
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tamechika Shin-ya, Maeda Shinji, Isogai Shuntaro, Maeda Tomoyo, Naniwa Taio, Niimi Akio
2. 発表標題 Human Immunology(Immunointervention)(Analysis of the effect of baricitinib on acute lung injury induced by selective human CD25 stimulation in humanized mice)
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Isogai Shuntaro, Maeda Shinji, Naniwa Taio, Niimi Akio
2. 発表標題 T Cell activation and responses(human and Vitro)(Development of a model to predict abatacept responsiveness in established RA by CD4+ Foxp3+ regulatory T cell phenotype in peripheral blood)
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田 智代, 前田 伸治, 爲近 真也, 難波 大夫, 新実 彰男
2. 発表標題 免疫抑制治療中のリウマチ膠原病患者における結核抗原特異的T細胞の検討
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田 伸治
2. 発表標題 ベリムマブによるSLE患者末梢血のT細胞の変化
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田 伸治
2. 発表標題 関節リウマチ末梢血CD3+T細胞の教師なしクラスタリング解析
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前田 伸治 , 大佐賀 智 , 爲近 真也 , 前田 智代 , 磯谷 俊太郎 , 難波 大夫 , 新実 彰男
2. 発表標題 関節リウマチ患者の末梢血TregのPhenotypeとAbatacept治療反応性
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田 伸治 , 爲近 真也 , 前田 智代 , 難波 大夫
2. 発表標題 Extinguish-Th17と関節リウマチ疾患活動性の相関
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田伸治, 爲近真也, 前田智代, 難波大夫
2. 発表標題 Extinguish-Th17と関節リウマチ疾患活動性の相関
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会総会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 前田 伸治 大佐賀 智 前田智代 難波大夫
2. 発表標題 Sparse analysis of rheumatoid arthritis clinical background and peripheral blood Treg phenotype
3. 学会等名 第47回日本免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 為近真也 前田伸治 上原幸治 前田智代 新実彰男
2. 発表標題 プリスタン誘発ループモデルに対する選択的CD25刺激の影響
3. 学会等名 第46回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田伸治
2. 発表標題 シンポジウム1 高齢者RA患者のマネージメント 1 免疫病態について
3. 学会等名 第30回中部リウマチ学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 前田伸治, 為近真也, 前田智代, 難波大夫
2. 発表標題 ABA中止時点によるリウマチ患者Thサブセットと再燃予測の可能性
3. 学会等名 第62回日本リウマチ学会総会学術集会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------