

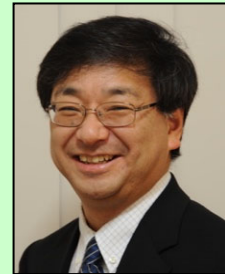
**病原性免疫記憶の成立機構の解明
-難治性炎症疾患の病態の理解へ-**

Elucidation of pathogenic immunological memory to understand the pathogenesis of intractable inflammatory diseases

課題番号：19H05650

中山 俊憲 (NAKAYAMA Toshinori)

千葉大学・大学院医学研究院・教授



研究の概要（4行以内）

本研究では、免疫学領域で残されている一大テーマである免疫記憶（Immunological memory）成立における細胞や分子機構に関するプリンシプルを明らかにしたい。特に「生体にとって有害な病原性免疫記憶 T 細胞が分化し生体内で長期間維持される分子機構、すなわち病原性免疫記憶成立の分子機構」をクロマチンレベルおよび生体レベルで解明する。

研究分野：免疫学、アレルギー学

キーワード：免疫システム、病原性免疫記憶、気道炎症、アレルギー

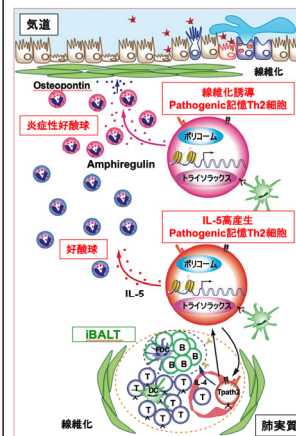
1. 研究開始当初の背景

慢性の Th1/Th2 病と呼ばれる病態は、Th1/Th2 細胞のアンバランスで起こるとされてきたが、研究代表者らはこれまで「免疫記憶細胞が生体内でできる際に特別な環境下で出現する記憶型 Pathogenic Th1/2/17 細胞に因る」という新たなコンセプトを提唱してきた。さらに IL-5 を高産生し炎症局所への好酸球を誘導する Pathogenic 記憶 Th2 細胞の他に Amphiregulin を特異的に産生し組織の線維化を誘導する線維化誘導-Pathogenic 記憶 Th2 細胞を同定し、多様な機能を持つ Pathogenic 記憶 Th2 細胞が存在することを明らかにした。これらの研究成果は、免疫記憶 T 細胞は細胞分化の最終形ではなく、炎症環境において更に機能分化し、多様な機能を獲得することで慢性炎症の形成と遷延化を担うことを示唆している。難治性である慢性炎症性疾患ではこのような病原性記憶 T 細胞をターゲットとした治療が不可欠であるが、その分化・維持・多様な機能獲得の分子機構についてはほとんど不明である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、「生体にとって有害な病原性免疫記憶 T 細胞が分化し生体内で長期間維持される機構、すなわち病原性免疫記憶成立の機序」を分子レベルおよび生体レベルで解明する。実際には、(1)アレルギー性気道炎症を起こす多様な“病原性記憶 Th2 細胞”の分化経路の解析から、病原性機能の獲得や維持を担うマスター転写因子や、サイトカイン遺伝子の転写記憶を司るエピジェネティッ

ク制御機構を解明する。(2)微小環境（場）の時空間的解析による免疫記憶の制御因子の同定を目指す。(3)ヒト（患者）の組織及び細胞で、最先端解析技術を用いて検証 (Proof of Concept : POC)する。



テーマ 1

“Pathogenic 記憶Th2細胞”の分化、多様な機能の獲得、機能維持の分子機構の解明

テーマ 2

“Pathogenic 記憶Th2細胞”の分化と維持を担う微小環境の時空間的な解析

テーマ 3

ヒト患者検体を用いた解析 (Proof of concept: POC)

本申請研究の概要

3. 研究の方法

(1) “病原性記憶 Th2 細胞”の分化経路、病原性を担う新規の機能分子を探るため、独自に樹立した Amphiregulin 産生細胞が蛍光発色するマウスを用い、Single cell RNA-Seq、ChIP-Seq、ATAC-Seq 法等で Pathogenic 記憶 Th2 細胞の網羅的遺伝子発現解析を行う。また、ポリコーム及びトライソラックス分子群による“病原性記憶 Th2 細胞”の機能変換・維持のメカニズムを、クロマチンレベルで解析する。

(2) “病原性記憶 Th2 細胞”の分化と維持を担う微小環境の時空間的な解析では、炎症局所の線維化、異所性リンパ組織 (iBALT)の免疫組織学的、及び、病理学的変化の解析を行う。

(3) POC を目ざした研究を進めるため、ヒト患者 (慢性好酸球性副鼻腔炎、慢性過敏性肺臓炎、好酸球性食道炎など) の検体を用いた解析を行う。

4. これまでの成果

1. “Pathogenic 記憶 Th2 細胞”の分化・多様な機能の獲得・機能維持の分子機構の解明

(1-1) 線維化誘導-Pathogenic 記憶 CD4 T 細胞をはじめとする Pathogenic 記憶 CD4 T 細胞集団は、肺の間質中に一定期間定住するいわゆる“組織常在性”の特徴を有していることを明らかにした (Ichikawa et al., *Nature Immunol.*, 2019)。これは当初の計画にはなく、**想定を超える進展であり、期待以上の研究成果であった。**この成果を含めた総説を世界に向けて広く発信した (Hirahara et al., *J Allergy Clin Immunol.*, 2021)。

(1-2) ポリコーム分子群の Ezh 2 の異常により、気道周囲の線維化が誘導されることを見出した (Tumes et al., *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2019)。またトライソラックス分子群の 1 つである Cxxc1 が、分化後期の二次的な遺伝子発現を制御することを同定した。さらにこの Cxxc1 依存的な分化後期の遺伝子発現の上昇が、過剰なサイトカイン産生を防ぎ、機能的な Th2 細胞の生成に必要なことを明らかにした (Kiuchi et al., *J Exp Med.*, 2021)。

2. Pathogenic 記憶 Th2 細胞の分化と維持を担う微小環境の時空間的な解析

多重免疫染色と共焦点レーザー顕微鏡を用いた免疫組織学的解析と平行する形で、走査型電子顕微鏡を用いて、上皮細胞の細胞外マトリックス、好酸球によって増生してくる線維細胞の細胞外マトリックス、線維芽細胞の増生や、平滑筋の肥大化などを指標に解析を進めている。

3. ヒト患者の検体を用いた検証 (POC)

好酸球性副鼻腔炎の患者 1 例から鼻腔内に発生したポリープを採取し、そこから記憶 CD4 T 細胞 (CD4⁺CD5RO⁺細胞) を調整した。この細胞の Single cell RNA-sequence 解析を行ったところ、様々な機能集団に分けることができた。現在、ヒトにおける組織線維化-Pathogenic T 細胞をはじめとする病原性ヘルパー T 細胞の特徴やマウスとの異同について、*in silico* の解析を進めている。

5. 今後の計画

(1) 病原性記憶 CD4 T 細胞の特徴を持つ炎症肺の組織常在性 CD4 T 細胞について網羅的解析による新規誘導機能分子の同定を目指す。

候補遺伝子が得られた際にはその遺伝子改変マウスを作成し、組織常在性記憶 CD4 T 細胞の維持や機能発現への影響を検証する。またポリコーム分子群の 1 つである Ezh2 を欠損したマウスやトライソラックス分子群の 1 つである Cxxc1 欠損マウスで線維化誘導-Pathogenic 記憶 Th2 細胞などの機能維持のメカニズムをクロマチンレベルで解析する。

(2) Pathogenic 記憶 Th2 細胞の分化・機能発現などにおいて鍵となる微小環境の細胞や分子を同定する。同定された微小環境の細胞について、エピジェネティックな解析を行う。

(3) 好酸球性副鼻腔炎のポリープ内や慢性過敏性肺臓炎など肺線維化を伴った呼吸器疾患における記憶 CD4 T 細胞の特徴と分化経路についての解析を行う。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Hirahara, K., Aoki, A., Kiuchi, M., and **Nakayama, T.**: Memory-type pathogenic Th2 cells and ILC2s in type 2 allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* S0091-6749(21)00219-0 (2021). /10.1016/j.jaci.2021.02.006
- Kiuchi, M., Onodera, A., Kokubo, K., Ichikawa, T., Morimoto, Y., Kawakami, E., Takayama, N., Eto, K., Koseki, H., Hirahara, K., and **Nakayama, T.**: The Cxxc1 subunit of the Trithorax complex directs epigenetic licensing of CD4⁺ T cell differentiation. *J. Exp. Med.* 218(4):e20201690 (2021). /10.1084/jem.20201690
- Ichikawa, T.,* Hirahara, K.,* Kokubo, K.,* Kiuchi, M., Aoki, A., Morimoto, Y., Kumagai, J., Onodera, A., Mato, N., Tumes, D. J., Goto, Y., Hagiwara, K., Inagaki, Y., Sparwasser, T., Tobe, K., and **Nakayama, T.**: CD103^{hi} T_{reg} cells constrain lung fibrosis induced by CD103^{lo} tissue-resident pathogenic CD4 T cells. (*equal contribution) *Nat. Immunol.* 20(11):1469-1480 (2019). /10.1038/s41590-019-0494-y
- Tumes, D., Hirahara, K., Papadopoulos, M., Shinoda, K., Onodera, A., Kumagai, J., Yip, K. H., Pant, H., Kokubo, K., Kiuchi, M., Aoki, A., Obata-Ninomiya, K., Tokoyoda, K., Endo, Y., Kimura, M. Y., and **Nakayama, T.**: Ezh2 controls development of natural killer T cells, which cause spontaneous asthma-like pathology. *J. Allergy Clin. Immunol.* 144(2):549-560.e10 (2019). /10.1016/j.jaci.2019.02.024

7. ホームページ等

<https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/>