

令和 4 年 4 月 6 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17420

研究課題名（和文）組織修復型制御性T細胞による破壊関節修復法の開発

研究課題名（英文）Therapeutic development of tissue repair in destructive joint by regulatory T cells

研究代表者

粕谷 忠道（Kasuya, Tadamichi）

千葉大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80867010

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）：関節リウマチは慢性破壊性の多関節炎である。近年、制御性T細胞が組織修復に関与していることが報告されている。

本申請者は、実験的関節炎モデルマウスにおいて、組織修復に重要であるAmphiregulinがST2陽性制御性T細胞から分泌されることを見出した。そこで、本研究では関節炎病態におけるST2陽性制御性T細胞の役割を検討することとした。関節滑膜部の制御性T細胞のトランスクリプトームを解析し、ST2が高発現することを確認した。次に、制御性T細胞特異的ST2欠損マウスを作成し、コラーゲン誘導性関節炎を惹起した。予想とは異なり、制御性T細胞特異的ST2欠損マウスでは関節炎の発症率が低い傾向にあった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、生物学的製剤の登場により関節リウマチの治療は目覚ましい進歩を遂げているが、依然として関節炎が改善せず、関節破壊に至る患者が存在する。

関節リウマチの病態に関する新しい知見が加わることで、次世代の関節リウマチ治療の基盤が構築されることが期待される。

また、制御性T細胞におけるST2発現の解析を実施することで、免疫学の発展に寄与することが可能な、意義のある研究である。

研究成果の概要（英文）：Rheumatoid arthritis is a chronic destructive joint disease affecting about 1% of population. Recent therapeutic advances have improved joint prognosis, however, there are still substantial number of patients who do not achieve remission. Recent study suggested that regulatory T cells have roles in repairing damaged tissues by producing amphiregulin. Our preliminary data suggested that ST2 positive regulatory T cells express high level of amphiregulin. Thus, in this study, we aimed to study the roles of ST2 positive regulatory T cells in the inflammatory arthritis model.

We have confirmed that ST2 is upregulated in synovium-infiltrating regulatory T cells by RNA-seq analysis. We also analyzed regulatory T cell-specific ST2 knock out mice in collagen induced arthritis model. Unexpectedly, these conditional knock out mice displayed worse disease compared to control mice.

研究分野：リウマチ学

キーワード：関節リウマチ コラーゲン誘導性関節炎 制御性T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチは慢性破壊性の関節炎である。近年の薬物療法の進歩によりその予後は改善しつつあるものの、依然として寛解に至らない患者が存在する。そのため、新しい病態理解に基づく新規創薬が望まれる。

制御性 T 細胞は免疫抑制性のヘルパー T 細胞サブセットである。近年、制御性 T 細胞は免疫抑制のみならず、組織修復に寄与していることが報告されている。例えば制御性 T 細胞の産生する Amphiregulin は肺炎後の肺組織修復や、筋肉損傷後の修復に重要である。

本申請者の予備実験では、関節炎局所の制御性 T 細胞も Amphiregulin を産生しており、その多くは ST2 の発現が見られた。

2. 研究の目的

そこで、本研究では ST2 を発現する制御性 T 細胞の関節炎病態における役割を解析することで、関節炎病態の理解を深めることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) コラーゲン誘導性関節炎における関節局所の制御性 T 細胞のトランスクリプトーム解析

マウスに Type II コラーゲンと完全フロイントアジュバントのエマルジョンを 2 階免疫することでコラーゲン誘導性関節炎を惹起し、制御性 T 細胞を分取、RNA シーケンス解析に供する。

(2) 制御性 T 細胞特異的 ST2 欠損マウスを用いたコラーゲン誘導性関節炎の解析

Foxp3cre マウスと ST2^{fllox} マウスを後輩させることで制御性 T 細胞特異的 ST2 欠損マウスを作出する。同マウスおよび同腹コントロールマウスにコラーゲン誘導性関節炎を誘導し、臨床スコア、病理学的スコア、関節浸潤細胞を解析する。

4. 研究成果

(1) コラーゲン誘導性関節炎における制御性 T 細胞のトランスクリプトーム解析

Foxp3creYFP マウスにコラーゲン誘導性関節炎を惹起し、関節部から分取した YFP 陽性細胞 (= 制御性 T 細胞)、ドレナージリンパ節の制御性 T 細胞、関節炎を惹起していない個体のドレナージリンパ節の制御性 T 細胞を RNA シーケンス解析に供した。

興味深いことに、主因子解析では関節炎を惹起したマウス、惹起していないマウスのドレナージリンパ節由来の制御性 T 細胞のトランスクリプトームは類似する一方、関節部から分取した制御性 T 細胞のトランスクリプトームは大きく異なっていた(図 1)。このことから、関節部の制御性 T 細胞はリンパ節とは異なる機能があることが示唆された。

また、関節部の制御性 T 細胞は Il1rl1(ST2)の発現が他の群と比べて有意に高いことを確認した。

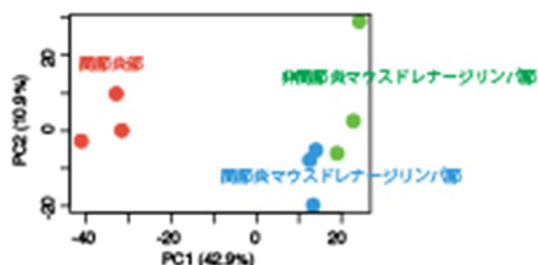


図 1 RNAシーケンス主因子分析

(2) 制御性T細胞特異的 ST2 欠損マウスを用いたコラーゲン誘導性関節炎の解析

Foxp3cre マウスと ST2flox マウスを後輩させることで制御性T細胞特異的 ST2 欠損マウスを作出した。同マウスは自己免疫性疾患を発症することはなく、免疫細胞分化に異常は見られなかった。同マウスおよび同腹コントロールマウスにコラーゲン誘導性関節炎を惹起した。既報の喘息モデルや自己免疫性脳脊髄炎モデルで見られたような疾患の増悪する表現型は見られず、むしろ関節炎が悪化した(図2)。

予想に反する結果であったため、関節部に浸潤する免疫細胞の詳細をフローサイトメトリーにて解析した。喘息や脳脊髄炎の解析結果では制御性T細胞特異的 ST2 欠損マウスにおける gdT 細胞の増加が疾患悪化の原因であることが示唆されていたが、コラーゲン誘導性関節炎の炎症組織に浸潤する gdT 細胞の割合に有意な差は認めなかった。現在、さらなる免疫細胞の解析を通じて、ST2 陽性制御性T細胞の関節炎病態における機能を評価している。

○—○ コントロール
○—○ 制御性T細胞特異的ST2欠損マウス

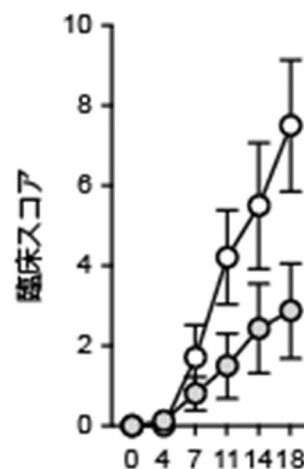


図2 関節炎モデル臨床スコア

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------