

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09658

研究課題名（和文）T細胞老化に関連した慢性炎症性疾患の発症メカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of T cell senescence-related pathogenesis of chronic inflammatory diseases

研究代表者

亀倉 隆太（Kamekura, Ryuta）

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：70404697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：IgG4-RD患者の血液では健常者と比較して活性化 Tph 細胞と濾胞外 B 細胞の割合が増加していた。また、IgG4-RD 患者では血液 Tph2 細胞の割合が増加しており、血液 Tph2 細胞の割合と血清 IgG4 値などの臨床パラメーターとの間に有意な正の相関を認めた。血液 Tph2 細胞の割合と濾胞外 B 細胞の割合との間に有意な正の相関を認めたことから、2つの細胞群の相互作用が示唆された。さらに、IgG4-RD 患者の血液では IgG4 陽性濾胞外 B 細胞の割合が血清 IgG4 値と正の相関を認めたことから、濾胞外 B 細胞は IgG4 の主な産生源である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫老化の観点から慢性炎症性疾患の病態を捉え、加齢に伴い増加する PD-1 陽性メモリー CD4 T 細胞である末梢ヘルパー T (Tph) 細胞の機能を明らかにすることで、IgG4 関連疾患などの高齢者に多い慢性炎症性疾患の病態解明と新規治療法の開発、高齢者の免疫能の低下を補いワクチンの効果を高めることで免疫老化を予防する新たなモダリティの開発に繋がる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed T peripheral helper (Tph) cells and extrafollicular B cells (age-associated B cells, ABCs) in peripheral blood from patients with IgG4-related disease (IgG4-RD). The percentages of ICOS+ Tph cells, Ki-67+ Tph cells and ABCs were increased in IgG4-RD patients compared with the percentages of those cells in healthy controls. The percentages of Tph2 cells were also increased in blood from patients with IgG4-RD. The percentage of Tph2 cells was positively correlated with clinical parameters including serum IgG4 and number of involved organs. In addition, the percentage of blood Tph2 cells was positively correlated with the percentage of blood ABCs, suggesting that Tph2 cells interact with ABCs in affected organs of IgG4-RD. Moreover, the percentage of IgG4+ cells in ABCs was increased in blood from patients with IgG4-RD compared with the percentage of IgG4+ cells in non-ABCs. The results suggest that ABCs are a main source of serum IgG4 in IgG4-RD.

研究分野：免疫・アレルギー

キーワード：老化関連 T 細胞 Tph2 細胞 免疫老化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「超高齢社会」の日本で健康寿命を伸ばすことは社会的ニーズである。加齢に伴う免疫機能の低下により感染症が増加し、持続的な感染と炎症反応の結果、自己免疫疾患や慢性炎症関連疾患が発症する。その背景に免疫系の老化現象「免疫老化」が関与している。この免疫老化をいかに防ぐかが健康寿命を伸ばす上で重要である。免疫系のキープレイヤーである T 細胞が産生される胸腺は、青年期から機能低下、萎縮を認めることから T 細胞は加齢による変化が最も大きい免疫細胞とされ、特にマウスでは加齢により末梢血に増加する PD-1 陽性メモリー CD4 T 細胞は老化関連 T 細胞として認識されている。老化関連 T 細胞は、通常メモリー CD4 T 細胞と異なり適応免疫機能を示さず、恒常性を維持するために自己複製を繰り返すため T 細胞抗原受容体 (TCR) の遺伝子再構成パターン (レパトア) の多様性が少ない。さらにオステオポンチンや CCL1 などの向炎症性分子を産生し、グランザイムなどの細胞傷害分子を発現するなど特殊な性質を持つ。

我々は以前より CD4 T 細胞に着目し、ヒト免疫・アレルギー疾患における役割を検討してきた (*Clin Immunol.* 2015、*J Immunol.* 2017、*Rheumatol Adv Pract.* 2018、*Immunol Lett.* 2019、*Mod Rheumatol.* 2020)。中でも高齢者に多く血清 IgG4 の異常高値と病変部の異所性リンパ組織の形成と線維化を特徴とする IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) の長年の研究から、濾胞ヘルパー T (T follicular helper; Tfh) 細胞、制御性 T (T regulatory; Treg) 細胞、濾胞制御性 T (T follicular regulatory; Tfr) 細胞、さらに最近には末梢ヘルパー T (T peripheral helper; Tph) 細胞といった PD-1 陽性メモリー CD4 T 細胞サブセットが疾患群の末梢血中で増加していることを明らかにした。中でも Tph 細胞は健常者の末梢血中で加齢と共に有意に増加していることから、老化関連 T 細胞であることが推察される。

本研究では慢性炎症疾患の病態において増加している PD-1 陽性の老化関連 T 細胞がもたらす免疫学的変化は何か？具体的には老化関連 Tph 細胞にはどのようなサブセットが存在し、慢性炎症性疾患の病態形成に関与するのかを明らかにする。さらに、CXCR5 などのケモカインレセプターの発現パターンから Tph 細胞は病変部位 (リンパ濾胞外) で機能を発揮すると考えられており、特定の B 細胞サブセットとの相互作用が推察される。今回我々は Tph 細胞の制御機構を明らかにするために、Tph 細胞のカウンターパートとして濾胞外 B 細胞 (CD19⁺CD11c⁺CD21⁺) に着目した。

2. 研究の目的

本研究では、免疫老化の観点から慢性炎症性疾患の病態を捉え、特殊な機能をもった老化関連細胞としての Tph 細胞による難治性免疫疾患の病態を明らかにし、新規治療法の開発や免疫老化を予防する新たなモダリティの開発に繋げることを目的としている。今回、慢性炎症性疾患の代表として高齢者に多い IgG4-RD を対象疾患とした。

3. 研究の方法

IgG4-RD 患者の末梢血からリンパ球を分離し、フローサイトメトリーで Tph (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CXCR5⁺PD-1^{hi}) 細胞の活性化分子 (ICOS), 細胞周期マーカー (Ki-67) の発現解析を行った。さらに Tph 細胞の割合と濾胞外 B 細胞 (CD3⁺CD19⁺CD11c⁺CD21⁺) の割合との関係について統計学的検討を行った。対照として年齢をマッチさせた高齢健常者の血液 Tph 細胞を用いた。

Tph 細胞を CXCR3 と CCR6 の発現に基づいて 3 つのサブセット (Tph1, CXCR3⁺CCR6⁻ Tph; Tph2, CXCR3⁻CCR6⁻ Tph; Tph17, CXCR3⁻CCR6⁺ Tph) に分類し、それぞれのサブセットの IgG4-RD 患者血液中の割合をフローサイトメトリーで検討した。対照として高齢健常者の血液を用い、解析結果と臨床パラメータとの関係について統計学的検討を行った。さらに Tph 細胞サブセットと濾胞外 B 細胞の割合との関係を検討した。

患者血液からセルソーターで Tph 細胞サブセット (Tph1, Tph2, Tph17 細胞) を単離し、各サブセットの TBX21 (T-bet), GATA3, RORC (ROR γ t) といった転写因子の発現を Real time PCR 法で解析した。

IgG4-RD 患者の血液リンパ球における IgG4 陽性濾胞外 B 細胞の割合をフローサイトメトリーで検討した。解析結果と血清 IgG4 値との関係について統計学的検討を行った。

4. 研究成果

【結果】

IgG4-RD 患者の血液では健常者と比較して ICOS⁺ Tph 細胞と Ki-67⁺ Tph 細胞が増加していた。また、IgG4-RD 患者の血液では濾胞外 B 細胞の割合が増加しており、血液 Tph 細胞の割合と濾胞外 B 細胞の割合との間に有意な正の相関関係を認めた。一方血液 Tfh 細胞の割合と濾胞外 B 細胞の割合の間には相関関係を認めなかった。この結果から、Toll-like receptor を発現する濾胞外 B 細胞が抗原提示細胞として Tph 細胞の分化・増殖に関与している一方で、Tph 細胞が抗体産生などの濾胞外 B 細胞の機能を制御している可能性が考えられた。

IgG4-RD 患者では健常者と比較して血液 Tph2 細胞の割合が増加していた。また血液 Tph2 細胞の割合と血清 IgG4 値、血清 IgE 値、罹患臓器数、血清可溶性 IL-2 レセプター値との間に有意な正の相関関係を認めた。また、血液 Tph2 細胞の割合と濾胞外 B 細胞の割合との間には有意な正の相関関係を認めた結果から、Tph2 細胞は濾胞外 B 細胞と相互関係を持つ可能性があると考えられた。このように IgG4-RD の病態形成においては、Tph2 細胞が重要な役割を担っている可能性がある。

Tph 細胞サブセット (Tph1, Tph2, Tph17 細胞) における転写因子の発現の検討で Tph1 は TBX21 (T-bet)、Tph2 は GATA3、Tph17 は RORC (ROR γ t) の発現がそれぞれ優位であり、Th1, Th2, Th17 細胞のパターンと同様の傾向であったが、Tph2 細胞は GATA3 に加えて TBX21 の発現が高く、Th1 (Tph1) 細胞様の性質を兼ね備えた特殊な細胞群である可能性が示唆された。Tph2 細胞は免疫疾患の病態形成への関与を含め、機能的役割について今後注目すべき細胞を考えられた。

IgG4-RD 患者の血液リンパ球では濾胞外 B 細胞の集団はそれ以外の B 細胞集団と比較して IgG4 陽性細胞の割合が高値であった。さらに患者血液の IgG4 陽性濾胞外 B 細胞の割合が血清 IgG4 値と正の相関を認めた。この結果から IgG4-RD 患者において濾胞外 B 細胞が IgG4 の主な産生源となっている可能性を示唆していた。

【今後の展望】

今回の研究により患者血液から遺伝子解析に十分な数の Tph 細胞サブセットを単離することが可能であったことから、Tph2 細胞 (CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺PD-1^{hi}CCR6⁺CXCR3⁻) とコントロールとして Tfh2 細胞 (CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺PD-1^{hi}CCR6⁺CXCR3⁻) をセルソーターでそれぞれ単離してトランスクリプトーム解析に提出し、現在結果待ちである。今後、両細胞群の転写物の比較検討を行う予定である。

老化関連 Tph 細胞の機能解析として、Tph2 細胞と濾胞外 B 細胞との共培養の系やヒト初代培養顎下腺導管上皮細胞または血管内皮細胞などをターゲット細胞とした細胞傷害アッセイの系で抗体産生誘導能や細胞傷害能について検討したい。

最近になりヒトにおける老化関連 T 細胞として、age-associated helper T (ThA) 細胞が報告された (Goto M et al. *Sci Immunol.* 2024)。予備実験で、年齢をマッチさせた健常者と IgG4-RD 患者血液中の ThA 細胞の割合をフローサイトメトリーで解析したところ、IgG4-RD 患者血液では健常者血液と比較して ThA 細胞の割合が増加していた。この結果から、IgG4-RD をはじめとする慢性炎症性疾患の病態形成の背景に T 細胞老化が存在する可能性が示唆され、本研究課題にある T 細胞老化に関連した慢性炎症性疾患の発症メカニズムの解明にとって大変重要な知見と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Nagahata Ken, Kanda Masatoshi, Kamekura Ryuta, Sugawara Masanari, Yama Naoya, Suzuki Chisako, Takano Kenichi, Hatakenaka Masamitsu, Takahashi Hiroki	4. 巻 36
2. 論文標題 Abnormal [18F]fluorodeoxyglucose accumulation to tori tubarius in IgG4-related disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 200 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12149-021-01691-8	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 Kamiya Shiori, Ikegami Ippei, Yanagi Masahiro, Takaki Hiromi, Kamekura Ryuta, Sato Taiki, Kobayashi Keiju, Kamiya Takafumi, Kamada Yuka, Abe Takaya, Inoue Ken-ichi, Hida Tokimasa, Uhara Hisashi, Ichimiya Shingo	4. 巻 142
2. 論文標題 Functional Interplay between IL-9 and Peptide YY Contributes to Chronic Skin Inflammation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 3222 ~ 3231.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2022.06.021	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 Yamamoto Motohisa, Nojima Masanori, Kamekura Ryuta, et al.	4. 巻 24
2. 論文標題 The differential diagnosis of IgG4-related disease based on machine learning	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-022-02752-7	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 Murayama Kosuke, Ikegami Ippei, Kamekura Ryuta, Sakamoto Hiroshi, Yanagi Masahiro, Kamiya Shiori, Sato Taiki, Sato Akinori, Shigehara Katsunori, Yamamoto Motohisa, Takahashi Hiroki, Takano Ken-ichi, Ichimiya Shingo	4. 巻 13
2. 論文標題 CD4+CD8+ T follicular helper cells regulate humoral immunity in chronic inflammatory lesions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 941385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.941385	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 Takano Kenichi, Kurose Makoto, Kamekura Ryuta, Kanda Masatoshi, Yamamoto Motohisa, Takahashi Hiroki	4. 巻 142
2. 論文標題 Tubarial gland involvement in IgG4-related diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Oto-Laryngologica	6. 最初と最後の頁 616 ~ 619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00016489.2022.2104368	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 Kanda Masatoshi, Kamekura Ryuta, Sugawara Masanari, Nagahata Ken, Suzuki Chisako, Takano Kenichi, Takahashi Hiroki	4. 巻 9
2. 論文標題 IgG4-related disease administered dupilumab: case series and review of the literature	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RMD Open	6. 最初と最後の頁 e003026 ~ e003026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/rmdopen-2023-003026	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 Kobayashi Keiju, Kamekura Ryuta, Kato Junji, Kamiya Shiori, Kamiya Takafumi, Takano Kenichi, Ichimiya Shingo, Uhara Hisashi	4. 巻 141
2. 論文標題 Cigarette Smoke Underlies the Pathogenesis of Palmoplantar Pustulosis via an IL-17A-Induced Production of IL-36 in Tonsillar Epithelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1533 ~ 1541.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2020.09.028	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 Yabe Hayato, Kamekura Ryuta, Yamamoto Motohisa, Murayama Kosuke, Kamiya Shiori, Ikegami Ippei, Shigehara Katsunori, Takaki Hiromi, Chiba Hirofumi, Takahashi Hiroki, Takano Kenichi, Takahashi Hiroki, Ichimiya Shingo	4. 巻 31
2. 論文標題 Cytotoxic Tph-like cells are involved in persistent tissue damage in IgG4-related disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 249 ~ 260
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2020.1719576	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 高野賢一、亀倉隆太、伊藤史恵	4. 巻 34
2. 論文標題 小児扁桃肥大におけるリンパ濾胞胚中心の形成メカニズム.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 口咽科	6. 最初と最後の頁 151 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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9件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 亀倉隆太、山本圭佑、一宮慎吾、高野賢一
2. 発表標題 シンポジウム 10 アレルギー疾患における上皮バリア異常の意義. アレルギー性鼻炎の病態形成における鼻粘膜上皮の役割.
3. 学会等名 第 71 回 日本アレルギー学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀倉隆太、酒本博史、村山公介、山本圭佑、高野賢一
2. 発表標題 末梢ヘルパー T 細胞と濾胞外 B 細胞の相互作用が IgG4 関連疾患の病態形成に関与する
3. 学会等名 第 35 回 日本口腔・咽頭科学会総会ならびに学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀倉隆太、山本圭佑、神田真聡、山本元久、高橋裕樹、高野賢一
2. 発表標題 IgG4 関連疾患における末梢ヘルパー T 細胞と濾胞外 B 細胞の機能的役割
3. 学会等名 第 30 回 日本シェーグレン症候群学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀倉隆太、山本圭佑、大國 毅、神田真聡、高橋裕樹、高野賢一
2. 発表標題 IgG4 関連疾患における末梢ヘルパー T 細胞サブセットの役割の検討
3. 学会等名 第 14 回 IgG4 関連疾患学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 亀倉隆太、池上一平、山本圭佑、山本元久、高橋裕樹、高野賢一、一宮慎吾
2. 発表標題 シンポジウム3-3 IgG4関連疾患の病因・病態と治療 末梢ヘルパーT細胞とIgG4関連疾患
3. 学会等名 第29回 日本シェーグレン症候群学会 学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 亀倉隆太、村山公介、一宮慎吾、高野賢一
2. 発表標題 IgG4関連疾患の病態形成におけるTph細胞の機能的役割
3. 学会等名 第1回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 亀倉隆太、村山公介、山本圭佑、重原克則、高野賢一、一宮慎吾
2. 発表標題 細胞傷害性Tph細胞のオリゴクローナルな増殖がIgG4関連疾患の病態形成に関与する
3. 学会等名 第70回 日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 重原克則、亀倉隆太、池上一平、柳昌弘、山本圭佑、一宮慎吾
2. 発表標題 鼻炎合併喘息患者におけるダニ舌下免疫療法濾胞ヘルパー及び濾胞制御性T細胞を中心とした解析
3. 学会等名 第70回 日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryuta Kanekura, Motohisa Yamamoto, Keisuke Yamamoto, Hiroki Takahashi, Kenichi Takano, Shingo Ichimiya
2. 発表標題 Interaction between peripheral T helper cells and CD11c+CD21- B cells underlies the pathogenesis of IgG4-related disease
3. 学会等名 American Academy of Allergy, Asthma and Immunology Annual Meeting 2022 (AAAAI 2022) (国際学会)
4. 発表年 2022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	一宮 慎吾 (Ichimiya Shingo) (30305221)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	
研究分担者	高野 賢一 (Takano Kenichi) (70404689)	札幌医科大学・医学部・教授 (20101)	

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