

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15901

研究課題名（和文）川崎病モデルマウスの胸腺における中枢性トレランスの病態への影響の検討

研究課題名（英文）Effects of Central Tolerance on Pathophysiology in the Thymus of a Mouse Model of Kawasaki Disease

研究代表者

佐藤 知実 (Sato, Tomomi)

滋賀医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：50874921

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：FK565誘導川崎病モデルマウスにおける胸腺の解析を行った。FK565マウスは通常、免疫後7日目に解析されることが多いが、7日後には胸腺が萎縮し解析が困難なため免疫後1日目の胸腺を解析に用いることとした。フローサイトメトリー法で解析すると川崎病モデルマウスでは、CD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞も減少していたが、特にdouble positive T細胞が減少しており、胸腺髄質上皮の機能の低下が示唆された。免疫染色で髄質上皮細胞は川崎病モデルマウスでも見られたが、髄質のdouble positive T細胞が減っていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

川崎病モデルマウスの冠動脈炎発症に、胸腺トレランスの破綻が関与している可能性について調べた。川崎病は日本人小児に好発し、無治療では高率に冠動脈疾患を引き起こす。冠動脈の炎症により冠動脈瘤を来すと若年性の心筋梗塞に至ることもある。現在の川崎病治療は、ガンマグロブリン静脈注射やステロイド内服、インフリキシマブ静脈注射など高価で重大な副作用を伴う治療薬が用いられており、胸腺の分子に直接影響するような安価で安全な治療薬の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the thymus gland in FK565-induced Kawasaki disease model mice; although FK565 mice are usually analyzed on the seventh day after immunization, we decided to use the thymus gland on the first day after immunization for analysis because the thymus gland atrophied after seven days, making analysis difficult. Flow cytometric analysis showed that CD4-positive T cells and CD8-positive T cells were decreased in the Kawasaki disease model mice, but double positive T cells were especially decreased, suggesting a decreased function of the thymic medullary epithelium. Immunostaining showed that medullary epithelial cells were also seen in Kawasaki disease model mice, but double positive T cells in the medulla were decreased.

研究分野：免疫学

キーワード：川崎病 FK565 胸腺

1. 研究開始当初の背景

川崎病は、日本人小児に多く発症し、後遺症として起こる冠動脈瘤は小児期および成人期の心筋梗塞の原因となるため、臨床的に非常に重要な疾患であるが、その病因は未だ不明である。川崎病の治療の中心は、血液製剤である高価なガンマグロブリンの大量投与であり、感染症の伝搬などの副作用の観点、医療経済的にも病態の根本的理解に基づいた安全な治療法の確立が待たれる。

2. 研究の目的

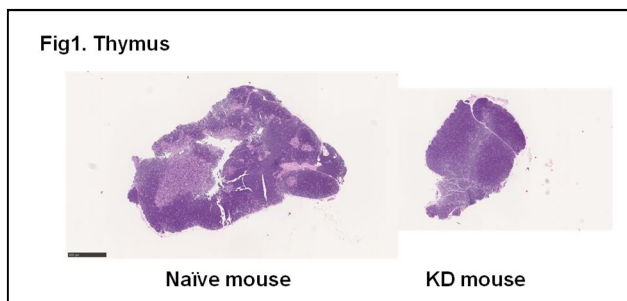
本研究は、パターン認識受容体である NOD1 のリガンドとして働くペプチド FK565 の投与により川崎病様の冠動脈炎を発症する川崎病モデルマウスで、胸腺の著明な萎縮と細胞数減少を見いだしたことから、本モデルマウスの冠動脈炎発症における自己免疫学的機序を明らかにすることを目的とする。NOD1 は、胸腺髄質上皮細胞に発現する転写因子 AIRE を介して胸腺髄質でのネガティブセレクションに関わることが示唆されることから、AIRE に着目し、自己反応性 T 細胞および自己抗体の冠動脈炎発症における役割を解明する。川崎病の冠動脈炎発症機序の一端を理解するとともに、冠動脈瘤を予防する新たな手段を開発する基盤の確立を目指す。

3. 研究の方法

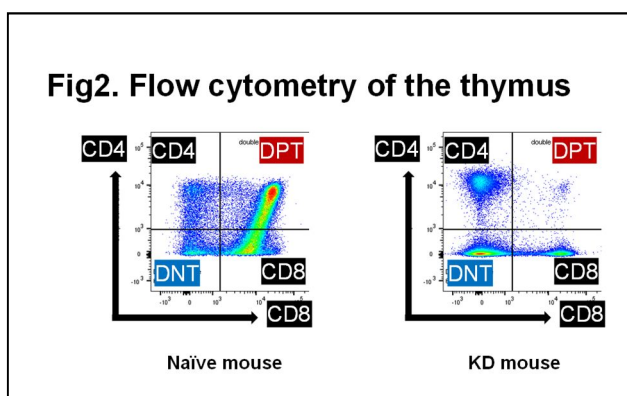
川崎病の病態の分子機序を明らかにするために、これまでにいくつかの川崎病実験動物モデルが確立されてきた。FK565 誘発マウス血管炎モデルは、放線菌の産生する免疫賦活化ペプチドの一つ FK156 の化学構造を基に化学合成されたペプチド FK565 をマウスに投与することによって、川崎病類似の冠動脈炎を惹起させる川崎病モデルである。研究者は、FK565 誘導川崎病モデルマウスを作成し、胸腺を摘出して免疫学的解析を行った。

4. 研究成果

FK565 マウスは通常、免疫後 7 日目に解析されることが多いが、7 日後には胸腺が萎縮し消失していることも多く、解析が困難なため免疫後 1 日目の胸腺を解析に用いることとした。胸腺の HE 染色では、胸腺の萎縮と、皮質・髄質構造の破綻が見られた (Fig1)。



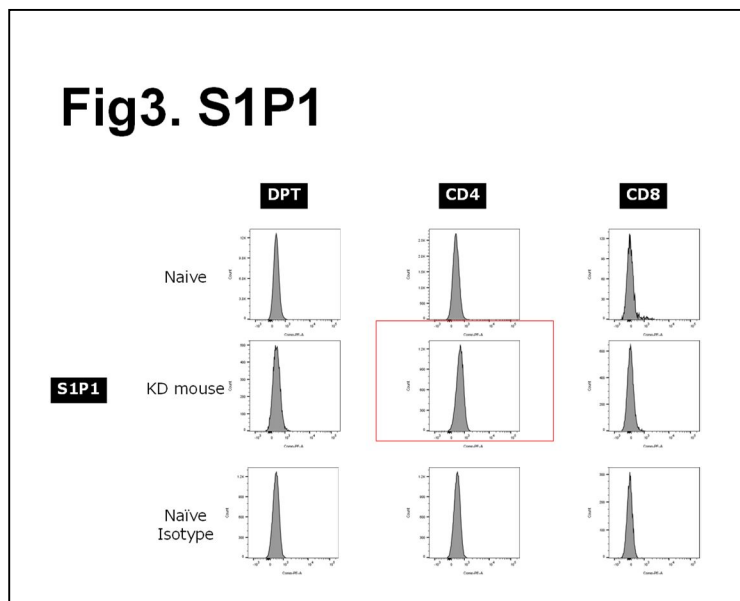
胸腺細胞をフローサイトメトリー法で解析すると川崎病モデルマウスでは、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞も減少していたが、特に double positive T 細胞が減少しており、胸腺髄質上皮の機能の低下が示唆された (Fig2)。免疫染色で髄質上皮細胞は川崎病モデルマウスでも見られたが、髄質の double positive T 細胞が減っていた。



これらの結果より、胸腺の髄質機能 (ネガティブセレクション) が低下していると考え、胸腺より mRNA を抽出し、AIRE を測定した Naive マウスと FK565 誘導川崎病モデルマウスで有意な差を認めなかった。また、胸腺細胞の遊走に関わる Fas、Fas リガンド分子にも有意な差を認めなかった。

胸腺細胞の流入や、流出の異常が胸腺萎縮の原因かと考え、Double positive T 細胞が減る理由として、CCR7 発現の低下があるのではと考えたが、Naive マウスと FK565 誘導川崎病モデルマウスで有意な差はなかった。しかし、FK565 誘導川崎病モデルマウスでは、胸腺 CD4 single positive T 細胞で S1P1 発現の上昇を認めた (Fig3)。胸腺 CD8 single positive T 細胞では同様の変化を認めずその理由は不明であったが、今後、qPCR 等で胸腺 CD4 single

positive T細胞の S1P1 の発現低下が実際に見られるかを確認し、胸腺 CD4 single positive T 細胞の胸腺からの流出促進が胸腺委縮の原因になっていることを追求し、その CD4 positive T細胞が冠動脈炎の原因としてどのような働きをするのかを探求する予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tomomi Sato, Shinsuke Hoshino, Yoshihiro Maruo
2. 発表標題 Failure of thymic tolerance in FK565-induced Kawasaki disease mouse model
3. 学会等名 the 13th International Kawasaki Disease Symposium
4. 発表年 2021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
---------	---------