

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 5 日現在

機関番号：82406
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2011～2012
課題番号：23791121
研究課題名（和文） 自己免疫疾患における制御性 T 細胞の可塑性の意義
研究課題名（英文） SOCS1 Is One of the Key Molecules to Prevent the Plasticity of Regulatory T Cells and the Development of Autoimmunity
研究代表者
高橋 令子（TAKAHASHI REIKO）
防衛医科大学校・医学教育部医学科専門課程・助教
研究者番号：90422120

研究成果の概要（和文）：

近年、制御性T細胞のexFoxp3細胞への変化である「可塑性」が報告され、自己免疫疾患への関与が指摘された。我々は、T細胞特異的SOCS1欠損マウスにおいて、SOCS1欠損TregがexFoxp3細胞に転換して自己免疫疾患様の症状を示すことを報告し（Takahashi R et al. J. Exp. Med. 2011）、さらにTreg特異的SOCS1欠損マウス由来のTregもこれらマウスからの抗原提示細胞との共培養で可塑性を示すことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Recently, natural Foxp3⁺ T cells have been shown to be a heterogeneous population regarding developmental plasticity. We have shown that T cell specific SOCS1 deficient (LckCre-SOCS1-flox) mice show autoimmune phenotypes, and Tregs from LckCre-SOCS1-flox mice easily convert into Th1- or Th17-like cells, which lack Foxp3 expression and suppressive functions *in vivo*. Because Tregs in LckCre-SOCS1-flox mice were constantly exposed to inflammatory cytokines from non-Treg cells *in vivo*, we then analyzed Treg specific SOCS1 deficient mice (Foxp3Cre-SOCS1-flox). When Tregs from Foxp3Cre-SOCS1-flox mice were cultured with antigen presenting cells from LckCre-SOCS1-flox mice, they produced IFN- γ , which indicate SOCS1 deficient Tregs develop plasticity under conditions in which APCs were highly activated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	510,000	3,710,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：全身性エリテマトーデス 制御性 T 細胞

1. 研究開始当初の背景

ヘルパーT細胞は免疫の司令塔と言われ、正のエフェクターT細胞と負の抑制性T細胞に分化し、免疫応答のバランスを決定する。また、その制御破綻がアレルギーや自己免疫疾患に直結する。抑制性のヘルパーT細胞としては、Foxp3をマスター遺伝子とする制御性T細胞(regulatory T cell;Treg)が代表的であり、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus;SLE)などの自己免疫疾患、膠原病において、その数や機能の異常が報告されているが一定の見解はまだ存在しない。

さらに、近年、胸腺で発生するnatural Treg(nTreg)における「可塑性」についての報告が続いた。リンパ節など末梢からFoxp3陽性nTregをRag2欠損マウスなどT細胞欠損のリンパ球減少状態にあるマウスに移入すると、4週後には50%程度Foxp3の発現を失う。さらにFoxp3を失った細胞集団は、IFN γ 、IL-17、IL-2などのサイトカイン産生T細胞と変化する(Komatsu N *PNAS* 2009)。これをexFoxp3とよび、Foxp3Creを用いた遺伝子マーキング実験から、通常のマウスでもexFoxp3が存在し、炎症状態ではexFoxp3が増加することが示された(Zhou X *Nat Immunol* 2009)。

筆者が所属する研究室では、サイトカインシグナル制御分子、suppressors of cytokine signaling(SOCS)の研究を通じてこの免疫寛容の維持機構を解明し、様々な知見を得て来た。以前よりSOCS1がnTregで発現が高いことは報告されていたが(Lu LF *Immunity* 2009)、SOCS1のTregにおける機能は不明であった。我々は、T細胞特異的SOCS1コンデ

シヨナル欠損マウスにおけるnTregの動態を解析したところ、脾臓で3-4倍、胸腺ですでに2倍以上にnTregが増加しているにもかかわらず、皮膚炎、関節炎、高ガンマグロブリン血症などのSLE様自己免疫疾患の症状を呈することを認めたことから、SOCS1欠損Tregにおける抑制能異常、exFoxp3の出現によるSLE様自己免疫疾患の発症を仮定して研究を進め、そのTregの可塑性を明らかにした。

2. 研究の目的

T細胞特異的SOCS1コンデシヨナル欠損マウスでは恒常的に非Tregから産生される炎症性サイトカインがTregに対して影響するために、さらにTreg特異的SOCS1欠損マウスを用いて、その抑制能異常、exFoxp3の出現を検討して、その病態のSLEへの関与を考察すること

3. 研究の方法

慶應義塾大学医学部において確立されたTreg細胞特異的SOCS1欠損マウスを用いてサイトカインの異常による自己免疫疾患モデルを確立する。このマウスから採取したTregを用いて、in vitro、in vivo(RAG2欠損マウスへのnaïve T細胞とwild-typeあるいはSOCS1欠損のnTregの移入実験)でのTregの抑制能を検討する。また、RAG2欠損マウスへそれぞれのTregのみを移入して、Foxp3発現の安定性、IFN γ やIL-17の産生を調べる。その結果を用いて、in vitroで、T細胞特異的SOCS1欠損マウスと同様の可塑性を惹起しうる条件を検討する。また、これらTregのSTATsの活性化状態をwestern blottingにて検討する。

4. 研究成果

Treg 特異的 SOCS1 欠損マウスの Treg を Rag2 欠損マウスへ移入し 8 週後に解析した。T 細胞特異的 SOCS1 欠損マウス由来の Treg とは異なり、naïve T 細胞との共移入での Treg の抑制能、さらに Foxp3 の発現共に保たれた。しかし、Treg 特異的 SOCS1 欠損マウスに DSS 腸炎を惹起させるモデルなど炎症状態では、Treg 特異的 SOCS1 欠損マウスは野生型マウスと比較して病態が増悪し、炎症状態下での Treg の可塑性が示唆された。Treg 特異的 SOCS1 欠損マウス由来の Treg は、in vitro の培養でそのままでは IFN γ を産生しないが、常に高サイトカイン状態に曝された T 細胞特異的 SOCS1 欠損マウス由来の抗原提示細胞と共に培養すると、Foxp3 を失い IFN γ を産生するようになった。これは IL-12p40 抗体で遮断された。また、Treg 特異的 SOCS1 欠損マウス由来の Treg では STAT4 が活性化していた。よって、SOCS1 は炎症状態下で Treg の可塑性を防御している事が解明された。SLE 患者では STAT4 の遺伝子変異なども報告されており、この機序が関与している可能性が高い。さらには、最近「Treg の可塑性」に関して重要な報告がなされた (Miyao *T Immunity* 2012)。可塑性を示す Foxp3 発現 T 細胞の起源は制御性 T 細胞ではなく、活性化の過程において一過性に Foxp3 を発現した非制御性の T 細胞であることが示された。また、少数の制御性 T 細胞は Foxp3 発現を一過的に失ったもののその記憶を保持しており、活性化により Foxp3 と免疫応答の抑制機能を再発現することが示された。そして、制御性 T 細胞の分化状態の安定性は Foxp3 発現自体ではなく、*Foxp3* 遺伝子座の DNA 脱メチル化状態により保障されていることも明らかとなった。SLE 患者リンパ球でのメチル化異常は古くから知られており、この現象に大いに関与してい

ることが予想され、知見を積む必要がある。現在、患者検体、モデルマウスを用いて実験中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 5 件)

1. Reiko Takahashi, Kenji Itoh, Fumihiko Kimura, Akihiko Yoshimura SOCS1 Is One of the Key Molecules to Prevent the Plasticity of Regulatory T Cells and the Development of Autoimmunity 2012 ACR/ARHP Annual Scientific Meeting 2012年11月10日～2012年11月14日 Washington DC
2. Reiko Takahashi, Kenji Itoh, Fumihiko Kimura, Akihiko Yoshimura Function of SOCS1 in regulatory T cells under inflammatory conditions Human Immunity 2012年08月19日～2012年08月21日 Lisbon
3. Reiko Takahashi, Akihiko Yoshimura Function of SOCS1 in regulatory T cells under inflammatory conditions 第41回日本免疫学会総会・学術集会 2012年12月05日～2012年12月07日神戸
4. 高橋令子、伊藤健司、木村文彦、吉村昭彦 炎症状態下の制御性T細胞におけるSOCS1の役割 第40回 日本臨床免疫学会 2012年09月27日～2012年09月29日 東京
5. 高橋令子 Function of SOCS1 in regulatory T cells under inflammatory conditions 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会 2012年04月26日～2012年04月28日 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋令子 (TAKAHASHI REIKO)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程
及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究

研究者番号 : 90422120