

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460066

研究課題名(和文) 老化関連T細胞の機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of senescence-Associated T cells (SA-T)

研究代表者

井上 浄 (INOUE, Joe)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任准教授

研究者番号：00433714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：当研究グループは加齢とともに増加する老化関連T細胞(SA-T)を発見・同定してきた。本研究では、老齢マウス、種々の疾患モデルマウスにおけるSA-Tの機能を解析した。老齢マウスにおいてSA-Tの増加および胚中心反応の増加を確認し、一部の個体で自己抗体の上昇を認めた。同様に自己免疫疾患モデルマウスであるNZB/W-F1マウスでは、野生型マウスと比較して非常に若い時期からのSA-Tの増加、胚中心反応の増加と自己抗体産生を認めた。興味深いことに、B細胞を欠損するマウスの解析では、老齢個体であるにも関わらずSA-Tがほとんど存在しないことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Our group has found and identified senescence-associated T cells (SA-T) which increase with age. In this study, the functions of SA-T in aged mice and various disease model mice were analyzed. Increase of SA-T and increase of germinal center reaction were confirmed in aged mice, and auto-antibody increased in some individuals. Similarly, NZB / W-F1 mouse, an autoimmune disease model mouse, showed an increase in SA-T, an increase in germinal center reaction and auto-antibody production from young age as compared with wild type mouse. Interestingly, analysis of mice lacking B cells revealed that there was almost no SA-T despite being an aged individual.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫老化 自己免疫疾患 胚中心

1. 研究開始当初の背景

加齢による免疫系機能の変化（免疫老化：Immunosenescence）は、がんや自己免疫疾患、慢性炎症性疾患の増加、ワクチン効果の低下などを引き起こすことが良く知られているが、その実体とメカニズムは未だ明らかとなっていない。近年、当研究グループでは老齢マウスの解析から、正常個体において加齢依存的に増加・蓄積する新しいヘルパーT細胞を発見・同定した（Shimatani *et al.*, PNAS 106;15807-12,2009.）。この老化関連T細胞（Senescence-Associated T cells, SA-T）は、抑制性副刺激受容体であるPD-1分子を構成的に発現するとともに、ケモカインレセプターであるCXCR5を発現し、老齢マウスや自己免疫疾患モデルマウスの2次リンパ組織の濾胞（特に胚中心）に局在している。これらの特徴は、いわゆる濾胞性ヘルパーT細胞（follicular helper T cells, Tfh）と酷似するものの、外来性の非自己抗原による一過性の胚中心反応で増加が認められるTfhに対し、SA-Tの増加はほとんど認められない。すなわちSA-Tは、Tfhとは明らかに異なる細胞であるにも関わらず免疫反応が活発な胚中心に存在することから、自己反応性の抗体産生をはじめとする何らかの免疫応答を誘導し、免疫機能の変化に関与している可能性が強く示唆される。

特徴が類似するSA-TとTfhの違いについて、これまでに次の3点を明らかにしてきた。SA-Tは転写因子としてC/EBP α を発現している、SA-TはCD30L（CD153）を発現している、サイトカインとして、SA-TはOsteopontin（OPN）やIFN- γ を産生し、TfhはIL-4やIL-21を産生する。特にサイトカイン産生については、SA-Tが通常のT細胞で全く産生の認められない向炎症性因子の

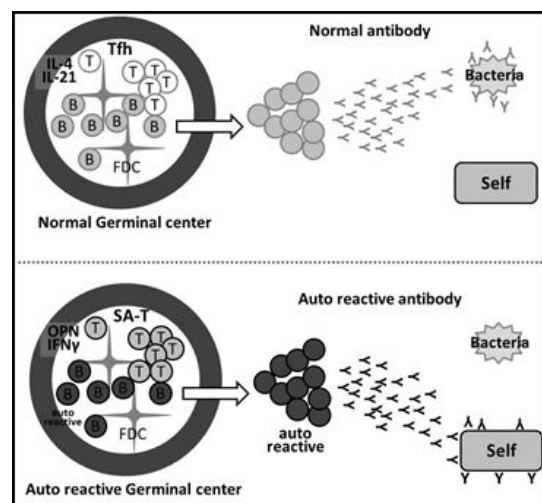
OPNを大量に産生するという特徴があり、OPNやIFN- γ 以外にも向炎症性因子として知られるSostdc1やMIP-1 α,β などを強く発現していることを確認している。これらの違いは、同じように2次リンパ組織の濾胞に存在しながらも、異なる機能を持つ可能性を強く示唆する。

2. 研究の目的

加齢とともに増加するSA-Tは強い向炎症性因子産生能を有し、免疫老化に伴う種々の疾患の誘発や炎症病態の慢性化と遷延化の基礎的要因として重要な役割を果たしている可能性が考えられる。また一部の自己免疫疾患モデルマウスの解析から、SA-Tの増加と病態の悪化が関連することを明らかにしており、上記の推察を支持している。そこで本研究では、このSA-Tの役割・機能を老齢マウスや種々の遺伝子改変マウス、炎症性疾患モデルマウスを用いて明らかにし、免疫老化への関与を明確にすることを目的とする。

3. 研究の方法

これまでの研究結果から、SA-Tの生体内での役割・機能は下図に示すような2次リンパ組織での胚中心における反応が中心になると推察できる。



そこで、SA-Tの生体内での機能・役割を個体レベル・細胞レベル・分子レベルで明らかにするために、以下の2点の研究計画を立て実行する。

(1) 老齢マウス、自己免疫疾患や糖尿病、がんのモデルマウスにおけるSA-Tの増加と自己反応性胚中心の形成、病態の発症を確認する。

(2) SA-Tが特徴的に発現・産生する転写因子や向炎症性因子の遺伝子破壊マウスおよびトランスジェニックマウスの作製と解析、ならびにTfhの分化・増殖に必須の因子を欠損したマウスでの解析を行う。

4. 研究成果

SA-Tは、2次リンパ組織の濾胞に局在し、加齢および自己免疫疾患モデルマウス等でその増加が認められ、向炎症性因子を高発現している。すなわちSA-Tは自己反応性の免疫応答に関与し、免疫老化による種々の疾患の一因となっている可能性が高い。そこで本研究では、老齢マウス、種々の疾患モデルマウスにおけるSA-Tの機能を解析した。老齢マウスの解析を行った結果、SA-Tの増加および胚中心反応の増加を確認し、一部の個体で自己抗体の上昇を認めた。同様に自己免疫疾患モデルマウスであるNZB/W-F1マウスの解析を行ったところ、野生型マウスと比較して非常に若い時期からのSA-Tの増加、胚中心反応の増加が認められ、若齢個体での自己抗体産生を認めた。これに対し、糖尿病モデルマウスであるNODマウスでは、病態の発症とSA-Tの増加に相関は認められなかった。また、メチルコラントレンを用いたがんモデルマウスのリンパ組織の解析においても大きな変化は認められず、がん局所における解析からも、SA-Tの増加は認められな

かった。これらの結果から、SA-Tは老齢およびNZB/W-F1マウスで特に増加することが明らかとなった。

興味深いことに、B細胞を欠損するマウスの解析では、老齢個体であるにも関わらずSA-Tがほとんど存在しないことが明らかとなった。次にTfhの分化・増殖・維持に関連する遺伝子を改変したマウスの解析を行ったが、これまでにSA-Tの誘導に大きな変化は認められていない。以上の結果から、SA-Tの誘導には特にB細胞が重要な役割を果たしていることが明らかとなり、今後はSA-Tを誘導するB細胞を特定していきたいと考えている。

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)

[雑誌論文](計4件)

Nishihara T, Inoue J, Tabata S, Murakami S, Ishikawa T, Saito N, Fukuda S, Tomita M, Soga T. Synthetic Biomarker Design Using Analyte-Responsive Acetaminophen. 査読有. ChemBioChem. 18, 1-5 (2017)

Supper E, Tahir S, Imai T, Inoue J, Minato N. Modification of Gene Expression, Proliferation, and Function of OP9 Stroma Cells by Bcr-Abl-Expressing Leukemia Cells. PLoS One. 査読有. 10(7), e0134026 (2015)

Tahir S, Fukushima Y, Sakamoto K, Sato K, Fujita H, Inoue J, Uede T, Hamazaki Y, Hattori M, and Minato N. A CD153+ CD4+ T follicular cell population with cell-senescence features plays a crucial role in lupus pathogenesis via osteopontin

production. 査読有. Journal of Immunology. 194(12), 5725-35 (2015)

Doi K, Imai T, Kressler C, Yagita H, Agata Y, Vooijs M, Hamazaki Y, Inoue J, Minato N. Crucial role of the Rap G protein signal in Notch activation and leukemogenicity of T-cell acute lymphoblastic leukemia. 査読有. Scientific Reports. 23(5), 7978 (2015)

〔学会発表〕(計1件)

2015年5月15-16日: Kyoto T cell Conference 京都:京都大学 芝蘭会館
「Rap1/SPA-1によるNKT細胞の分化制御」井上 浄、濱崎 洋子、湊 長博

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iab.keio.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 浄 (INOUE, Joe)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科・
特任准教授

研究者番号: 00433714