

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670192

研究課題名(和文) 加齢で増加する制御性T細胞による免疫抑制機構の解明

研究課題名(英文) Investigating the mechanisms of regulatory T cell expansion by aging

研究代表者

山崎 小百合 (Yamazaki, Sayuri)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70567255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者の免疫低下は、肺炎などの感染症、発癌をもたらす。本研究では、高齢者の免疫機能を上げる為に、リンパ組織においてどのようなメカニズムで加齢によって制御性T細胞が増加しているのか、を解析する事を目的として研究を行った。加齢マウスで特異的に増えている制御性T細胞のサブセットを見出す事ができ(Yamazaki et al, manuscript in preparation)、現在、その機能を中心に解析を継続している。

研究成果の概要(英文)：Immune suppression in aging contributes to developing serious infection and cancer. To improve the immune suppression in aged population and contribute to expand healthy aged people, we investigated the mechanisms how regulatory T cells are increased in aging using aged mice. We found that a special subset of regulatory T cells that increased in aged mice (Yamazaki et al, manuscript in preparation), and the research is ongoing currently.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 樹状細胞 加齢 免疫抑制

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会が進んでいる日本では、今後も高齢者の割合は増加を続け、2060年には2.5人に1人が高齢者になる(内閣府発表)。超高齢化社会を迎えて、医療費も高額化し、社会問題となっている。今の日本には高齢者の健康寿命をのばす方法の開発が必要である。高齢化社会で増加している癌、感染症、自己免疫疾患、メタボリックシンドロームに伴う慢性炎症などの治療に貢献するために、本研究にて高齢化に伴う免疫異常機構を解明する。高齢者の免疫異常の回復を実現し、高齢者の健康寿命を延長する事を目指す。高齢者の免疫異常を上手に制御する方法が開発されれば、社会的にも大変意義がある。

加齢に伴う免疫異常の一つとして、申請者らは、加齢に伴う免疫低下は、加齢とともに増加する制御性T細胞による免疫抑制が一因である、という事を示した(Nishioka T, ..., Yamazaki S, Sakaguchi S et al. *J Immunol* 2006)。加齢に伴い増加する制御性T細胞は末梢において、特に腸管において、抗原とTGF- $\beta$ の刺激により誘導される peripheral induced Treg(pTreg)である事が米国 Memorial Sloan Cancer Center の A. Rudensky のグループにより報告された( Josefowics et al. *Nature*, 2012)。pTreg は主に腸管の常在菌やその代謝産物により維持されている事は本田賢也慶応大教授のグループなどにより見出された(Atarashi et al. *Nature* 2013; Furusawa et al. *Nature* 2013; Arpaia N et al. *Nature* 2013; Smith PM et al. *Science* 2013; Atarashi et al. *Science* 2011)。これと対照的に、胸腺により自然に選択され thymus-derived Treg( tTreg)は生後3日目より末梢に存在する。tTreg の末梢での維持には紫外線が重要である可能性を申請者らは示した(Yamazaki S\* et al *J Immunol* 2014; \*Corresponding author)。

制御性T細胞を中心とする免疫制御機構の研究は、世界中の多くの免疫学者で激しい競争がなされている領域である一方、加齢に伴う免疫異常の研究は、超高齢化社会を迎える日本においてもあまり進んでいないのが現状である。

## 2. 研究の目的

高齢化に伴う免疫系の異常は、多岐にわたる。高齢化社会を迎え、高齢者の肺炎による死亡の増加のため、肺炎による死亡は、脳血管疾患を超え、現在の日本人の死因の3位となっている。高齢者の肺炎は、高齢化に伴う感染症に対する抵抗性の低下によると考えられる。高齢化に伴い癌の発生率は上がるのも免疫低下が一因といわれている。さらに、加齢に伴う免疫異常には、免疫の低下による感染症や発ガンに関わるのみでなく、加齢に伴い発症するメタボリックシンドロームなどの慢性炎症、自己免疫疾患の発症にも関わっている。確実に超高齢化を迎えている日本にとっては加齢に伴う免疫異常の研究は欠かせない。

高齢者の免疫低下は、肺炎などの感染症、発癌をもたらす。本研究では、高齢者の免疫機能を上げる為に、加齢に伴う制御性T細胞による免疫抑制を解除する方法への貢献を目指した。本研究にて、加齢に伴う免疫異常のメカニズムを解明する事で高齢者の健康寿命を上手に制御する事に貢献できる。

## 3. 研究の方法

今回、リンパ組織においてどのようなメカニズムで加齢によって制御性T細胞が増加しているのか、どのようなサブセットの制御性T細胞が増加しているのかを、解析する事を目的として研究を行った。1年6

ヶ月以上の年齢の老化マウスと2-3ヶ月令の若いマウスを比較する事で解析した。マウスはC57BL6マウスを使用した。リンパ節、脾臓、皮膚などの制御性T細胞につき、FACS, real time PCRによる解析を主に行った。制御性T細胞は、抗Foxp3抗体(eBioscience)、抗CD4抗体(Biolegend)による染色にて同定した。FACSはBD FACSVerseによるmultiple color解析を行った。

#### 4. 研究成果

若いマウスと比較すると老化マウスのリンパ系組織ではFoxp3+CD4+制御性T細胞が増加している事を確認した。加齢マウスで特有に増えている制御性T細胞のサブセットを見出す事ができ、その機能を中心に解析した。興味深いことに、老化マウスの皮膚においてはFoxp3+CD4+制御性T細胞の増加に有意差は認められなかった。脾臓、リンパ節などで制御性T細胞が特異的に集積、集積するメカニズムがあると考えられ、そのメカニズムを解析した。その結果、老化マウスのリンパ系組織で増加しているFoxp3+CD4+制御性T細胞に特異的に高く発現するケモカインレセプターを同定する事ができた。ケモカインレセプターとリガンドの発現の差が、老化マウスにおけるFoxp3+CD4+制御性T細胞の集積に関与していると示唆され、リガンドの発現について現在解析中である(Yamazaki et al, manuscript in preparation.)。

#### 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3件)

1. 山崎小百合、加齢で増加する制御性T細胞と免疫抑制、加齢皮膚医学セミナー、2016年11巻、in press. 査読無
2. 山崎小百合、森田明理、制御性T細胞の

恒常性と皮膚、臨床皮膚科、2016年04月号(増刊号)(Vol.70 No.5 pp39-41) 査読無

3. Gunawan M, Venkatesan N, Loh JT, Wong JF, Berger H, Neo WH, Li LY, La Win MK, Yau YH, Guo T, See PC, Yamazaki S, Chin KC, Gingras AR, Shochat SG, Ng LG, Sze SK, Ginhoux F, Su IH. The methyltransferase Ezh2 controls cell adhesion and migration through direct methylation of the extranuclear regulatory protein talin. Nat Immunol. May;16(5)2015:505-16. 査読有

〔学会発表〕(計12件)

1. Sayuri Yamazaki, Mizuyu Odanaka, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Shoryu Takayama, Masaki Imai, Osamu Taguchi, Akimichi Morita. Ultraviolet B (UVB) Exposure Expands Thymus-derived Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>Regulatory T Cells with Distinctive Phenotype in The Skin. 第40回研究皮膚科学会. 2015.12.10-.2015.12.13. 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)
2. 山崎小百合、免疫の制御を利用した感染症や癌に対する新しい治療戦略、第28回日本外科感染症学会総会学術集会(招待講演)2015.12.2. 名古屋東急ホテル(愛知県・名古屋市)
3. Mizuyu ODANAKA, Sayuri YAMAZAKI, Akiko NISHIOKA, Saori KASUYA, Shoryu TAKAYAMA, Masaki IMAI, Osamu TAGUCHI, Akimichi MORITA. Phenotype analysis of Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in the skin after Ultraviolet B exposure. 第44回日本免疫学会学術集会. 2015.11.20. 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
4. Sayuri Yamazaki, Masaki Imai, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Mizuyu Odanaka, Osamu Taguchi, Akimichi Morita. Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells with Decreased Motility Accumulate in Aged Lymphoid Tissue. 第44回日本免疫学会学術集会. 2015.11.20. 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
5. TAKAYAMA Shoryu, ODANAKA Mizuyu, Ohta Rieko, IMAI Masaki, YAMAZAKI Sayuri. Differential roles of complement anaphylatoxin C5a and C5adesArg. 第44回日本免疫学会学術集会. 2015.11.18.

- 札幌コンベンションセンター（北海道・札幌市）
6. Mizuyu Odanaka, Sayuri Yamazaki, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Syoryu Takayama, Masaki Imai, Akimichi Morita, Phenotype analysis of Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells and dendritic cells in the skin after Ultraviolet B exposure. LC2015, 14th International Workshop on Langerhans Cells, 2015.11.5-2015.11.8. Kyoto International Community House (Kyoto, JAPAN)
  7. Kohei Tsujimura, Rieko Ohta, Masaki Imai, Sayuri Yamazaki, Analysis of C5a receptor expression on the various subsets of dendritic cells. LC2015, 14th International Workshop on Langerhans Cells, 2015.11.5-2015.11.8. Kyoto International Community House (Kyoto, JAPAN)
  8. Sayuri Yamazaki, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Naganari Ohkura, Hiroaki Hemmi, Tsuneyasu Kaisho, Osamu Taguchi, Shimon Sakaguchi, Akimichi Morita, Ultraviolet B-expanded Thymus-derived Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cells Interact with Dendritic Cells in The Skin. LC2015, 14th International Workshop on Langerhans Cells, 2015.11.5-2015.11.8. Kyoto International Community House (Kyoto, JAPAN)
  9. 辻村幸平、太田里永子、今井優樹、山崎小百合、C5a 第 2 レセプター C5L2 の発現解析。第 52 回補体シンポジウム。2015.8.20。名古屋大学医学部附属病院（愛知県・名古屋市）
  10. 山崎小百合、樹状細胞と制御性 T 細胞による免疫応答制御、第 2 回 GSK 免疫皮膚カンファレンス（招待講演）2015.7.25。大津プリンスホテル（滋賀県・大津市）
  11. 山崎小百合、制御性 T 細胞と樹状細胞による免疫制御、第 54 回湯島皮膚科談話会（招待講演）2015.7.4。ステーションカンファランス万世橋（東京都）
  12. 山崎小百合、樹状細胞による制御性 T 細胞の制御、第 25 回免疫細胞療法研究会（招待講演）2015.4.20。福島県立医科大学（福島市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/immunol.dir/index.html>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

山崎小百合 (Yamazaki Sayuri)  
名古屋市立大学・医学研究科・教授  
研究者番号：70567255

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし