

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26713015

研究課題名(和文) 関節炎におけるT細胞分化可塑性の意義の解明と治療法の開発

研究課題名(英文) Pathological significance of T cell plasticity in arthritis and development of novel therapies

研究代表者

小松 紀子 (Komatsu, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：20553358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,300,000円

研究成果の概要(和文)：関節リウマチは病態を悪化させる悪玉T細胞と抑制する善玉T細胞のバランスの破綻が病因となりうるが根本的な治療法は確立されていない。申請者らは以前善玉T細胞から分化転換した新規病原性T細胞が関節炎を悪化させることを見出したが、そのメカニズムは不明な点が多かった。本研究において、遺伝学的手法により新規T細胞と組織特異的な間葉系細胞との協調作用が関節炎の骨破壊の基軸となることを示した。網羅解析により新規T細胞の特異的マーカーを複数同定することに成功しており、今後の治療法の開発につながる分子基盤を確立した。

研究成果の概要(英文)：It is widely known that the imbalance between pathogenic T cells and regulatory T cells is involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA), however, the fundamental treatment for RA has not been established. We previously reported that a novel pathogenic T cell subset which is converted from regulatory T cells exacerbated autoimmune arthritis, however its effector mechanism remained to be elucidated. Here, by genetic methods, we clarified the importance of the interaction between the pathogenic T cell subset and tissue resident-mesenchymal cells in the bone destruction in arthritis. By comprehensive analysis, we identified several molecules that are specifically expressed in the new pathogenic T cell subset, which will contribute to the development of novel therapeutic strategies for rheumatoid arthritis in the future.

研究分野：免疫学

キーワード：関節リウマチ 自己免疫疾患 T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患の病態形成には免疫応答を促進する Th17 細胞と抑制する制御性 T 細胞 (Regulatory T 細胞) Treg 細胞のバランスが疾患進行の鍵となりうる。Treg 細胞のマスター転写因子 Foxp3 はその抑制機能の発揮に必須である。関節リウマチはもっとも罹患率の高い自己免疫疾患のひとつであり、慢性的な炎症に引き続いて骨破壊がおこる炎症性骨疾患に分類される。申請者らは関節リウマチの炎症環境下において Foxp3<sup>+</sup>T 細胞が炎症と骨破壊を惹起する新規 Th17 細胞サブセット (exFoxp3Th17 細胞) に分化転換することを見出している。exFoxp3Th17 細胞は有用な治療標的と考えられるが、その病原性を司る分子基盤は未だ不明な点が多かった。

関節リウマチの骨破壊は破骨細胞によって引きおこされ、破骨細胞の分化は RANKL によって誘導される。したがって RANKL を発現する細胞は破骨細胞の分化を誘導することで骨破壊に寄与すると考えられるが、生体内における主要な破骨細胞誘導細胞は同定されていなかった。exFoxp3Th17 細胞は RANKL を高く発現するが、試験管内ではおもに IL-17 を介して滑膜線維芽細胞の RANKL 発現を誘導することで破骨細胞の分化を強力に誘導する。しかしながら、滑膜線維芽細胞の RANKL の骨破壊の直接的な寄与については生体内での証明はなされていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、exFoxp3Th17 細胞に着眼し、その病原性を司る分子基盤の解明、関節リウマチの骨破壊における病理的意義の確立、を目的として研究を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤の解明

exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る

分子基盤を明らかにするためトランスクリプトームおよびプロテオーム解析を行った。また、試験管内での exFoxp3Th17 細胞の分化制御に関与する因子の探索を行い候補遺伝子をスクリーニングした。CRISPR-Cas9 システムを用いて候補遺伝子をターゲットとした遺伝子欠損マウスの樹立を試みた。

### (2) exFoxp3Th17 細胞の関節リウマチの骨破壊における病理的意義の確立

exFoxp3Th17 細胞が誘導する滑膜線維芽細胞の RANKL 発現の病理的意義を検討するため、細胞系譜特異的に RANKL を欠損させたマウスを新規に作成し、関節炎誘導時における関節の炎症スコアと骨破壊レベルを評価した。

## 4. 研究成果

### (1) exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤の解明

Foxp3<sup>+</sup>T 細胞由来の Th17 細胞の特異的発現因子群をマイクロアレイ、プロテオーム解析

により同定した。遺伝子制御系を用いて分化転換に及ぼす機能を試験管内で評価し、候補分子を複数同定し、遺伝子欠損マウスを複数樹立した。今後も表現型解析を継続して進め、exFoxp3Th17 細胞の分化や病原性を司る分子基盤の解明に繋げる。

### (2) 関節リウマチの骨破壊における exFoxp3Th17 細胞の病理的意義の確立

T 細胞、滑膜線維芽細胞、軟骨細胞それぞれ特異的に破骨細胞誘導因子 RANKL を欠損させたマウスの作成に成功した。これらのマウスにコラーゲン抗体誘導性関節炎を誘導し、骨破壊の評価を行った。T 細胞と軟骨細胞特異的に RANKL を欠損させたマウスではコントロールと同程度の骨破壊が認められた一方で、滑膜線維芽細胞特異的に欠損させたマウスでは骨破壊の抑制が認められた。T 細胞依存性の関節炎モデルであるコラーゲン誘導性関節炎においても同様の傾向が認められた。このことから滑膜線維芽細胞が関節炎における破骨細胞を誘導する主たる細胞であることが支持された。したがって exFoxp3Th17 細胞はおもに滑膜線維芽細胞の RANKL 発現を誘導することで骨破壊に寄与することが考えられた。本研究により exFoxp3Th17 細胞-滑膜線維芽細胞-RANKL が関節炎の骨破壊の主軸の一つとなることが示された。

### (3) 口腔免疫における exFoxp3Th17 細胞の病理的意義の解明

研究開始当初の目的には含まれていなかったが、興味深いことに、関節リウマチと同じく炎症性骨疾患である歯周炎においても、exFoxp3Th17 細胞が最強の骨破壊誘導性 T 細胞として、おもに間葉系細胞の RANKL 発現を増強することで骨破壊をひきおこすことを見出した。したがって exFoxp3Th17 細胞-間葉系細胞-RANKL 軸は広く炎症性骨疾患の骨破壊を誘導する主要な機軸であると考えられる。さらに、歯周炎において exFoxp3Th17 細胞は口腔内細菌を制御することで感染防御に貢献するという知見を見出した。したがって、exFoxp3Th17 細胞は、関節リウマチでは悪玉細胞であるのに対し、歯周炎においては組織破壊を誘導する一方で、生体防御を担う善玉細胞としての側面をもつことがわかった。

以上の研究結果により本研究において Foxp3<sup>+</sup>T 細胞の分化可塑性の生体内における病理的意義の一端が明らかになった。また、関節炎誘導性の exFoxp3Th17 細胞の特異的マーカーを複数同定することに成功した。今後 exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤のさらなる解明を通して、関節リウマチの病態解明と治療法の開発を目指し研究を継続していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件) 全て査読あり

1. Tsukasaki M, Komatsu N, Nagashima K, Nitta T, Pluemsakunthai W, Shukunami C, Iwakura Y, Nakashima T, Okamoto K, Takayanagi H. Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells. *Nat Commun.* 16;9(1):701. (2018)
2. Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, Sawa S, Nitta T, Takayanagi H. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying The Immune and Skeletal Systems. *Physiol Rev.* 97(4):1295-1349 (2017)
3. Tsukasaki M, Hamada K, Okamoto K, Nagashima K, Terashima A, Komatsu N, Win SJ, Okamura T, Nitta T, Yasuda H, Penninger JM, Takayanagi H. LOX Fails to Substitute for RANKL in Osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 32(3):434-439 (2017)
4. Danks L, Komatsu N., Guerrini, Sawa S, Marietta Armaka M, Kollias G, Nakashima T, Takayanagi H. RANKL expressed on synovial fibroblasts is primarily responsible for bone erosions during joint inflammation. *Ann Rheum Dis.* 75(6):1187-95. (2016)
5. Guerrini MM, Okamoto K, Komatsu N., Sawa S, Danks L, Penninger JM, Nakashima T, Takayanagi H. Inhibition of the TNF Family Cytokine RANKL Prevents Autoimmune Inflammation in the Central Nervous System. *Immunity.* 43(6):1174-85 (2015)
6. Takaba H, Morishita Y, Tomofuji Y, Danks L, Nitta T, Komatsu N, Kodama T, Takayanagi H. Fezf2 Orchestrates a Thymic Program of Self-Antigen Expression for Immune Tolerance. *Cell.* 163(4): 975-87 (2015)
7. Negishi-Koga T, Gober HJ, Sumiya E, Komatsu N., Okamoto K, Sawa S, Suematsu A, Suda T, Sato K, Takai T, Takayanagi H. Immune complexes regulate bone metabolism through FcR signalling. *Nat Commun.* Mar 31;6:6637. (2015)
8. Komatsu N., Takayanagi H. Arthritogenic T cells in autoimmune arthritis. *Int J Biochem Cell Biol.*;58:92-6. (2015)

[学会発表](計 26 件)

1. 塚崎雅之、小松紀子、Warunee Pluemsakunthai, 高柳広  
骨破壊性 T 細胞による口腔細菌感染制御  
第 3 回日本骨免疫学会 ウィンターセミナー  
(招待講演) 2018 年 1 月 ホテルマロウド軽井沢  
軽井沢町 長野県

2. 塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広  
Foxp3 陽性 T 細胞に由来する Th17 細胞の歯周炎における役割 先端歯学スクール 2017  
2017 年 8 月 東京医科歯科大学 文京区、東京都
3. Masayuki Tsukasaki, Noriko Komatsu and Hiroshi Takayanagi  
exFoxp3Th17 cells, a bone-damaging T cell subset in periodontal disease  
第 65 回 国際歯科研究学会日本部会総会・学術大会 2017 年 11 月 昭和大学 品川区、東京都
4. 小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広  
関節炎の骨破壊における免疫系と滑膜線維芽細胞の協調作用 第 4 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2017 年 10 月 アキバホール 千代田区、東京都
5. 塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広  
Foxp3 陽性 T 細胞に由来する Th17 細胞の歯槽骨破壊における役割 第 4 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2017 年 10 月 アキバホール 千代田区、東京都
6. Warunee Pluemsakunthai, 塚崎雅之、小松紀子、高柳広  
マウス歯周炎細菌叢の網羅解析システムの開発 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市、沖縄県
7. 塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広  
歯周炎における Foxp3 陽性 T 細胞の分化可塑性の役割 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市、沖縄県
8. 小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広  
自己免疫性関節炎の骨破壊における免疫系と間葉系の相互作用 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市、沖縄県
9. 小松紀子  
免疫が骨を壊すしくみ 第 62 回日本病理学会 秋期特別総会(招待講演) 2016 年 11 月 金沢市文化ホール 金沢市、石川県
10. 小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広

自己免疫性関節炎における免疫系による破骨細胞の分化誘導機構 第2回日本骨免疫学会 2016年7月 ホテルモントレ沖縄スバ&リゾート 恩納村、沖縄県

11.

小松紀子

免疫系による炎症性骨疾患の制御 第37回日本炎症再生医学会(招待講演)2016年6月 京都市勧業館 京都市、京都府

12.

Noriko Komatsu

Plasticity of Foxp3+T cells and its impact on autoimmune arthritis Immunology AAI Annual Meeting 2016年5月 Washington State Convention Center, Seattle, USA

13.

Noriko Komatsu

Plasticity of Foxp3+T cells and its impact on autoimmune arthritis 日本免疫学会 2015年11月 札幌コンベンションホール 札幌市、北海道

14.

小松紀子

免疫系が骨を壊すしくみ -関節リウマチにおける骨破壊のメカニズム- TOKushima Young Investigators Conference (招待講演)2015年10月 徳島大学 日亜メディアカルホール 徳島市、徳島県

15.

小松紀子, Lynett Danks, 中島友紀、高柳広 関節炎におけるT細胞による破骨細胞の分化制御 日本骨免疫学会 2015年7月 ホテルブリーズベイマリーナ 宮古島市、沖縄県

16.

小松紀子, Lynett Danks, 中島友紀、高柳広 関節炎におけるT細胞による破骨細胞の分化制御 日本炎症再生医学会 2015年7月 虎ノ門ヒルズフォーラム 港区、東京都

17.

小松紀子

炎症性骨破壊における新規 Th17 細胞サブセットと滑膜線維芽細胞の協調作用 日本骨代謝学会(招待講演)2015年7月 京王プラザホテル 新宿区、東京都

18.

小松紀子

自己免疫関節炎の病態形成における Foxp3+T細胞の分化可塑性の重要性 日本リウマチ学会(招待講演)2015年4月 名古屋国際会議場 名古屋市、愛知県

19.

小松紀子、岡本一男、澤新一郎、中島友紀、田中栄、高柳広

Foxp3 陽性 T 細胞から分化した Th17 細胞の自己免疫性関節炎における病理学的意義 第9回炎症・脂質代謝・メタボリサーチフォーラム 2015年2月 東京大学、文京区、東京都

20.

Noriko Komatsu

Pathogenic Conversion of Foxp3+ T Cells into TH17 Cells in Autoimmune Arthritis Keystone Symposium 2015年2月 Keystone Conference Center, Keystone, USA

21.

小松紀子 高柳広

自己免疫性関節炎を惹起する新規T細胞サブセット リウマチフォーラム(招待講演) 2015年1月 新横浜プリンスホテル、新横浜、神奈川県

22.

小松紀子

Foxp3 陽性 T 細胞から分化した Th17 細胞の自己免疫性関節炎における重要性 第17回骨代謝研究会(招待講演) 2014年11月 慶應大学、新宿区、東京都

23.

Noriko Komatsu

Pathogenic TH17 cells of Foxp3+T cell origin in autoimmune arthritis 第8回骨・軟骨フロンティア(招待講演) 2014年11月 ベルサール八重洲、中央区、東京都

24.

小松紀子、岡本一男、澤新一郎、中島友紀、田中栄、高柳広

Foxp3 陽性 T 細胞から分化した Th17 細胞の自己免疫性関節炎における重要性 第35回日本炎症・再生医学会 2014年7月 万国津梁館、名護市、沖縄県

25.

小松紀子

自己免疫性関節炎の病態形成における Foxp3 + T 細胞の分化可塑性の重要性 第29回自己免疫研究会 2014年7月 東海大学校友会館、千代田区、東京都

26.

N. Komatsu, K. Okamoto, S. Sawa, T. Nakashima, M. Oh-hora, T. Kodama, S.

Tanaka, J.A. Bluestone, and H. Takayanagi Pathogenic conversion of Foxp3+ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis 5th International Conference on Osteoimmunology 2014年6月 Double

Tree Kos Conference Center, Kos, Greece

〔図書〕(計 8 件)

1.  
小松紀子 高柳広  
医学のあゆみ 医歯薬出版社  
259(2):165-169 (2016)
  2.  
小松紀子  
CLINICAL CALCIUM 医薬ジャーナル社  
26(5):683-9 (2016)
  3.  
小松紀子、高柳広  
CLINICAL CALCIUM 医薬ジャーナル社  
25(12):1749-55 (2015)
  4.  
小松紀子  
医学のあゆみ 医歯薬出版社  
Vol.253 No.12 (2015)
  5.  
小松紀子 高柳広  
実験医学 羊土社 増刊号 Vol.33 No.12  
(2015)
  6.  
小松紀子、高柳広  
日本臨床 日本臨床社 増刊号  
72(suppl.3):116-120 (2014)
  7.  
小松紀子、高柳広  
実験医学 羊土社 32(8): 1261-1264 (2014)
  8.  
小松紀子  
炎症と免疫 先端医学社 22(5): 344-349  
(2014)
6. 研究組織  
(1)研究代表者  
小松 紀子 (KOMATSU, Noriko)  
東京大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 20553358