

## 免疫疾患モデルマウスを用いた免疫応答の加齢変動の解析

### [1] 組織

代表者：宮寺 浩子

(筑波大学医学医療系)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：なし

研究費：物件費 13 万円，旅費 0 円

### [2] 研究経過

獲得免疫応答は若年期と高齢期では質的・量的に異なることが知られており、ワクチン応答の世代間の違い等の現象としても認められる。加齢による免疫応答の減弱は胸腺の萎縮など免疫系を司る臓器、各免疫系細胞の機能変化、および生体のさまざまな加齢変化とのバランスの上に成立していると推測され、その仕組みを理解することは加齢後の免疫疾患の治療やワクチン開発を行う上で重要である。老化に伴う獲得免疫系の変動がどのような段階を経て起こるのか、そのプロセスは完全に理解されておらず、この過程を明らかにすることは獲得免疫系の基本的な仕組みの理解にもつながる。申請者はこれまでモデル動物 (non-obese diabetic mouse (NOD マウス)) を用いて 1 型糖尿病の発症率測定を行ってきた。NOD マウスは遺伝背景が均一なモデルマウスであり、1 型糖尿病を自然発症することから、獲得免疫系の加齢変動を捉える上で有用と考えた。1 型糖尿病はインスリンなど膵自己ペプチドを提示する主要組織適合性抗原 (major histocompatibility complex クラス II (MHC II)) を認識する T 細胞が膵臓に浸潤し、膵島のインスリン産生細胞 (B 細胞) を破壊することで発症に至る。NOD マウスは雌の 8 割以上の個体が 40 週齢以下で 1 型糖尿病を自然発症するが、約 5-10% の個体は高齢 (40 週齢以上) で発症し、稀にごく少数の個体が超高齢 (80 週齢以上) で発症に至る。これまでの研究により、野生型 NOD マウスの若年発症個体と高齢発症個体とは病態の進行速度が異なる傾向を示すことを見出した。

これらの背景に基づき、本研究は NOD マウスを用いて、1 型糖尿病発症・病態に関わるリンパ球構成および機能を見出し、若年発症・高齢発症個体間での認

識抗原、膵臓浸潤 T 細胞および抗原提示細胞の質的・量的な違いを明らかにすることを目的として行った。一連の研究により、若年発症群での病態進行を抑制する方法の開発など、1 型糖尿病の疾患研究が進展するのみならず、加齢後の免疫応答の特徴やそれを生じる過程について知見が得られると期待される。

本研究では、膵臓 T 細胞及び膵臓浸潤 T 細胞の受容体 (TCR) 配列解析を加齢研究所生体防御学分野との協力により実施した。打ち合わせはメールにて行い、データ解析は対応者 (東北大学・加齢医学研究所・小笠原康悦) が管理するサーバ上で行った。

図に本研究の概要を示す。

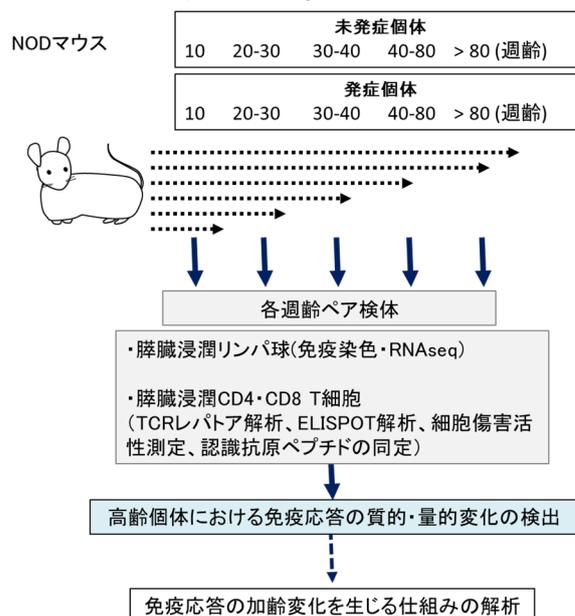


図 本研究の全体像

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

NOD マウスを用いて、随時血糖値、尿糖値測定を 2~4 週間に 1 回行い、発症率を経時的に観察し、随時血糖値 (250mg/dL 以上) かつ尿糖値 100 mg/dL 以上の個体を発症個体とした。NOD マウスでは、雌の 8 割以上の個体が 40 週齢前に 1 型糖尿病を自然発症するのに対し、5%ほどの個体は高齢 (40 週齢以上)、または超高齢 (80 週齢以上) で発症に至る。若年発症個体お

よび、発症時期が遅い個体を対象として、未発症・発症個体のペア検体について TCR 配列解析を行った。具体的には、NOD マウスの 1 型糖尿病発症個体・非発症個体での発症個体、未発症個体の脾臓および膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞をプールし total RNA を抽出し、生体防御学分野にて total RNA から cDNA 合成を行い、遺伝子特異的非バイアス増幅法にて PCR 増幅して解析用ライブラリーとした。次世代シーケンサーにて得たデータを生体防御学分野にて独自開発した T 細胞受容体遺伝子解析ソフトを用いて解析し、T 細胞受容体レパトア解析を行った。各個体の TCR 配列データの詳細については現在解析中である。また、膵浸潤 T 細胞が認識する抗原ペプチドおよび、若年・高齢発症個体間で自己抗原の違いの有無を今後明らかにするため、細胞株を用いた TCR 発現系についての予備実験を行った。今後、TCR 解析データおよび特定の TCR 配列を持つ T 細胞のクローニングもしくはその TCR 配列の発現細胞を作製し、自己抗原の同定及び若年発症個体、高齢発症個体間での自己抗原の違いの有無および免疫応答の違いを明らかにする。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

加齢により獲得免疫応答が変化する機序は完全に解明されていない。本研究では、NOD マウスを用いることにより、若年発症・高齢発症における自己免疫反応の量的・質的な違いを見出すことが出来る可能性がある。これらの知見から、ヒトにおける自己免疫疾患、ワクチン応答、がん免疫、アレルギー等の加齢による変化を明らかにする上で有用な知見が得られると期待される。

#### [4] 成果資料

該当なし (投稿準備中)