

課題番号 45

加齢による IFN 応答変化と記憶 T 細胞依存的な炎症性疾患の解析

[1] 組織

代表者：石川 怜

(名古屋市立大学薬学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：肥田 重明 (名古屋市立大学)

村瀬 香乃 (名古屋市立大学)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

わが国では、超高齢化が進み、新興感染症や再興感染症などと併せて、慢性疾患が公衆衛生上の問題になることが危惧されている。加齢という観点からも免疫応答を理解し、感染症や慢性疾患の予防・治療への応用が重要であると考えられる。これまで加齢に伴う免疫制御機構の分子機構についてはほとんど明らかになっていない。そのため、自発性慢性炎症のモデル動物の病態解析や新規治療法の開発は、近年ますますその重要性を増している。本共同研究では、免疫応答で重要な役割を果たす T 細胞と皮膚組織や所属リンパ節に存在する免疫細胞に着目して、加齢に伴う炎症性疾患への影響とその分子機構を明らかにする。

IFN 制御因子 (IFN regulatory factor, IRF) の欠損マウスでは、約 10 週齢から脱毛、20 週齢で潰瘍ができるなど、加齢に伴い皮膚炎を発症し、慢性炎症の病態を呈する。申請者らのグループは、これまでに、このモデルマウスを用いてサイトカインの観点から皮膚炎症の研究を進めてきた (Hida et al. *Immunity* 2000)。しかしながら、この IFN 制御因子は、全身で発現しているにもかかわらず、皮膚特異性の炎症を発症する。このことから皮膚特異的な T 細胞による抗原認識が重要であることが予想されるが、詳細な分子機構は明らかになっていない。IFN 誘導遺伝子の発現制御に重要な転写因子 IRF-2 が生体の様々な恒常性維持に重要な役割を果たしていることに注目し、I 型 IFN システムの破綻が T 細胞依存的な炎症性皮膚を発症させることを明らかにした。現在、皮膚炎発症の詳細な免疫分子機序を明らかにするために、免疫細胞で重要な役割を果たす種々の免疫細胞とそれらに発現する受容体および転写因子の関与について、二重、

三重遺伝子改変マウスを作成し、皮膚炎症の発症と進行について解析する計画を立てた。

以下、研究活動状況の概要を示す。

本年度は、e-mail や電話、web ミーティングを活用して、2 か月に 1 度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。

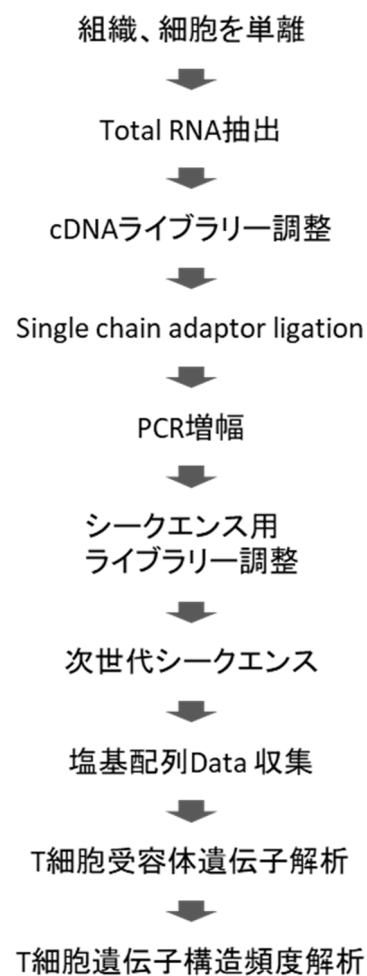


図1 T細胞受容体解析実験の流れ

Irf2^{-/-}マウスの皮膚炎発症には、CD8⁺ T 細胞が重要な役割を果たすことをすでに報告している (Hida et al. *Immunity* 2000)。そこで T 細胞に着目して、共同研究先である貴学東北大学加齢医学研究所 (小笠原康悦教授) と協力して、さらに詳細な T 細胞の受容体の解析を進めることにした。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

レポーター細胞の樹立

これまでに *Itf2* マウスの慢性皮膚炎の発症には、I型 IFN の過剰応答、CD8⁺ T 細胞の活性化と IFN- γ 産生が重要であることを報告した。CD8⁺ T 細胞受容体刺激によって、NFAT の活性化がおこり、NFAT 依存的に IL-2 などのサイトカインの転写が誘導される。そこで、血球系細胞株に NFAT 依存的に GFP などを発現する細胞を樹立した。今後、特定の TCR を発現している T 細胞から、 α 、 β それぞれの T 細胞受容体遺伝子をクローニングして、この T 細胞受容体レポーター細胞の樹立を行う予定である。皮膚炎症誘導 T 細胞は、自己抗原を認識する可能性と常在細菌由来分子を認識している可能性がある。皮膚常在細菌である表皮ブドウ球菌や黄色ブドウ球菌由来の分泌タンパク質を T 細胞が認識している可能性もあることから、これらの細菌由来の抗原の同定、およびリコンビナントタンパク質の作成も並行して行っている。また、IFN 刺激によって GFP を発現するレポーター細胞も樹立し、IRF-2 の IFN 誘導遺伝子の発現制御機構についても解析を行っている。

皮膚常在細菌由来分子による免疫応答への影響

皮膚常在細菌の1つである黄色ブドウ球菌由来分子が、T 細胞やマスト細胞に発現する CD43 に結合して免疫応答に影響を与えることを明らかにした。これらの常在細菌由来分子による病態への影響も考慮する必要があることが示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

これまで自己免疫疾患などの慢性炎症性疾患の発症とその病態の進行に関与する免疫の分子機構はほとんど明らかになっていない。さらに炎症性疾患は遺伝的背景のみならず、常在細菌を含めた様々な環境因子などの相互作用が複雑に影響していると考えられている。そのため、本研究は進行性の T 細胞依存的な慢性炎症の経時的な観察ができることに大きな意味をもつ。

本共同研究は、学外研究者との相互交流によって、飛躍的に活性化することができた。また、本研究で開発したレポーター細胞を用いて、応募者らが開発予定の新規医薬品に対し、評価する研究を進めている。このシーズをもとに大型研究費として AMED へ共同で応募する準備を進めている。さらに、本共同研究で明らかになった皮膚発症に関与する特異的 T 細胞の存在を明らかにした研究成果は、慢性炎症性疾患の治療への応用という研究領域への発展が期待される。

[4] 成果資料

1. Kawano S, Noda C, Itoh S, Urabe A, Fujii C, Ogawa I, Suzuki R, Hida S.; Staphylococcal superantigen-like protein 3 triggers murine mast cell adhesion by binding to CD43 and augments mast cell activation. *Genes Cells*, 2024 *in press*
2. Kitano T, Togawa K, Takemori J, Motoki Y, Kishida K, Itoh S, Takamoto M, Taki S, Hida S.; Interleukin-3-dependent potentiation of IgE responsiveness in mouse basophils. *Genes Cells*. 28(3):226-236, 2023
3. Sawai Y, Suzuki Y, Asagiri M, Hida S, Kondo R, Zamponi GW, Giles WR, Imaizumi Y, Yamamura H.; Caveolin-1 forms a complex with P2X7 receptor and tunes P2X7-mediated ATP signaling in mouse bone marrow-derived macrophages. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1:326:C125-C142, 2023