

論文内容の要旨

論文題目 制御性 T 細胞サブセットの分化減少を伴うマウス腸炎モデルの解析

指導教員 山本一彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 18 年 4 月進学

医学博士課程

内科学専攻

川上 美里

「免疫寛容」とは、ある特定の抗原に対して攻撃しないという免疫系の性質を意味する。中でも自己抗原に対する免疫寛容である「自己免疫寛容」は外来抗原への反応性を維持しつつ自らの生体を守る重要な機構であり、その破綻は自己免疫疾患の発症へ直結すると考えられている。「自己免疫寛容」の制御は臓器移植や自己免疫疾患治療における最も重要な課題である。

1995 年に坂口らにより Foxp3 をマスター遺伝子とする CD4 陽性 CD25 陽性 T 細胞が、自己免疫疾患を抑制する制御性 T 細胞 (regulatory T cell:Treg) サブセットとして報告された。現在では、CD4 陽性 CD25 陽性 T 細胞は主に胸腺より分化し、胸腺内で発現する自己

抗原に対する免疫寛容を誘導する「内因性 Treg: naturally occurring Treg (nTreg)」として知られている。一方、末梢（胸腺外）で分化し外来性抗原などに対する免疫寛容を誘導する「誘導性 Treg: induced Treg (iTreg)」の存在も報告されている。iTreg として、Type I regulatory T cell (Tr1)細胞、Th3 細胞などが知られており、Tr1 細胞は IL-10、Th3 は TGF- β といった抑制性サイトカイン産生を特徴とするが、いずれも実験系で誘導されるサブセットであり、定常状態で存在するサブセットとしては同定されていない。また、特異的な細胞表面マーカーも明らかではない。しかしながら、2009 年、当教室の岡村らにより IL-10 を高産生し、lymphocyte activation gene-3 (LAG-3)を細胞表面マーカーとする CD4 陽性 CD25 陰性 Treg が報告された。

LAG-3 は 4 つの免疫グロブリン様ドメインを有する I 型膜貫通型蛋白であり、CD4 と構造的な相同性を認め、CD4 よりも強く MHC class II に結合するという特徴を有する。LAG-3 は主に活性化された T 細胞、Natural Killer 細胞などに発現することが知られていたが、近年、CD4 陽性 CD25 陽性 Treg の抑制能の一部を担っていること、T 細胞の homeostatic expansion を制御していることなどが報告され、LAG-3 による免疫抑制能が注目されてきている。しかしながら、LAG-3 の 90%以上は CD4 陽性 CD25 陰性 T 細胞に発現しており、CD4 陽性 CD25 陰性 T 細胞における LAG-3 の機能は不明であった。

岡村らは、CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg は転写因子 early growth response gene-2 (Egr2) を特異的に発現すること、また、Egr2 を強制発現させた CD4 陽性 T 細胞は、CD4 陽性 CD25 陽性 LAG3 陽性 Treg と同様の表現型を獲得し、抗原特異的な免疫抑制能を有することを報告している。Egr2 は zinc-finger 型の転写因子であり、菱脳の形成、神経の髄鞘

化に関わる重要な因子として知られていたが、近年、T 細胞のアナジの誘導に重要な転写因子であることが報告され、免疫恒常性維持における Egr2 の関与に関心がよせられてきている。

今回の検討では、2 系統の T 細胞レセプター (TCR) トランスジェニックマウス (TEa マウス および、OT-II マウス) を使用して、① TEa マウスが腸炎を自然発症すること、② TEa マウスは CD4 陽性 CD25 陽性 Treg のみならず、CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg も欠乏すること、③ CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg は TEa マウスの腸炎を抑制すること、④ TCR revision により CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg が分化・誘導されることを示した。

TEa マウス (H-2^b haplotype) は、マウス MHC クラス II I-E α 鎖の 52-68 フラグメント (E α 52-68 ペプチド) に特異的な TCR を有し、CD4 陽性 CD25 陽性 Treg を欠乏することが既に報告されている。OT-II マウスはニワトリ卵白アルブミン (OVA) に特異的な TCR を有するトランスジェニックマウスである。

当教室で飼育している TEa マウスは飼育過程において激しい下痢、体重減少を認めた。そこで、TEa マウス大腸組織を検討したところ、正常同腹仔と比して著しい腸管壁の肥厚、炎症細胞浸潤を認め、TEa マウスは腸炎を自然発症することが判明した。TEa マウスの脾臓 および、パイエル板では、CD4 陽性 CD25 陽性 Treg のみならず、CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg も欠乏していた。一方、OT-II マウスは CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg の減少傾向および、腸炎の自然発症は認めなかった。そこで、C57BL/6 マウス (H-2^b haplotype) の CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg を TEa マウスに養子移入したところ、腸炎に対する有意な治療効果を認めた。

次に、これら2系統のTCRトランスジェニックマウスにおけるTCR revisionにつき検討を加えた。その結果、OT-IIマウスと比してTEaマウスはTCR revisionが低頻度であることが判明した。さらに、TCR revisionとLAG-3発現につき検討したところ、TCRクロノタイプが低発現となったCD4陽性T細胞において、LAG-3発現が誘導されることが判明した。この結果は、TEaマウスではTCR revisionが低頻度であり、CD4陽性CD25陰性LAG3陽性Tregを欠乏することと矛盾しない。近年、TEaマウスとOT-IIマウスは、抗原に対するTCR交差反応性に差がある可能性が指摘されている。これらのことより、自己抗原・食餌抗原・共生微生物抗原などに対するTCR交差反応性の違いが、TCR revisionをおこす頻度および、CD4陽性CD25陽性TregとCD4陽性CD25陰性LAG3陽性Tregの分化・誘導の差異に関与している可能性が推測された。

今回の報告では、末梢性免疫寛容の制御におけるCD4陽性CD25陰性LAG3陽性Tregの役割と、その分化・誘導機序の解析を通じて、炎症性腸疾患を含めた自己免疫性疾患の成立にTCR revisionが関与していることを明確にした。興味深いことに、代表的炎症性腸疾患であるクローン病に関して、chromosome 10q21のSNP(一塩基多型)との強い相関が近年報告されたが、この遺伝子間領域はEgr2遺伝子と近接している。このことは、Egr2遺伝子がヒトにおける炎症性腸疾患関連遺伝子の強力な候補遺伝子であることを示唆しており、炎症性腸疾患をはじめとする自己免疫性疾患の治療においてCD4陽性CD25陰性LAG3陽性Tregが有効である可能性が考えられる。近年、自己免疫性疾患の薬物治療は長足の進歩を遂げているものの、臨床現場においては抗原非特異的免疫抑制による感染症を含めた副作用が大きな問題となっている。IL-10の末梢性免疫寛容における重要性は論をまたないが、ヒトにおける治療では、IL-10の半減期が短く血中濃度が維持出来ないことなどから十分

な効果が得られていない。今後の臨床応用には細胞療法も含めた IL-10 供給経路の工夫が必要である。

今回の検討における CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性 Treg の分化・誘導機序解明は、炎症性腸疾患を含めた自己免疫疾患における抗原特異的免疫抑制療法の開発の一助となると考えられた。