

腸管免疫系における炎症疾患病原性 T 細胞のサイトカインシグナルによる制御機構

奥山祐子

東北大学大学院医学系研究科 免疫学分野

【研究の背景】

当研究室では、T細胞共刺激分子であるOX40(TNFRSF4)シグナルを中心としたT細胞活性化機構について研究してきた。マウスを用いたこれまでの研究から、リンパ球減少状態において、腸間膜リンパ節(MLN)におけるOX40シグナル依存的T細胞増殖がIL-17産生ヘルパーT(Th17)細胞の産生に関与することが明らかとなった(文献1)。最近、腸内細菌がTh17細胞産生を介して全身性の自己免疫炎症の惹起に関与することが示され注目されているが、我々の知見より、腸間膜リンパ節におけるTh17細胞の供給が、Th17細胞誘導性の自己免疫疾患の発症に関与することが想定された。

また、我々は最近、Th17細胞分化誘導に必須のIL-6シグナル伝達において、OX40を含むTNFRスーパーファミリーのシグナル分子であるTRAF5がIL-6受容体gp130に結合しIL-6シグナル依存的なSTAT3の活性化を阻害することによりTh17細胞分化を抑制するという新規メカニズムを発見した(文献2)。TRAF5欠損マウスにおいてTh17細胞依存性自己免疫疾患の一つである多発性硬化症のマウスモデル実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)の発症の増悪が確認され、病原性Th17細胞の形成をTRAF5が抑制することが明らかとなった。gp130ファミリーサイトカインシグナルに対するTRAF5の制御はT細胞以外にB細胞、樹状細胞等でも行われMLNにおけるTh17細胞の増殖、供給に関与する可能性が考えられる。

以上より、自己免疫疾患発症において、腸間膜リンパ節は gp130 ファミリーサイトカインシグナル伝達を介し病原性 Th17 細胞を活性化、供給する特有の機構を持つことが想定される。その作用機序として、抗原特異的 T 細胞のプライミング、病原性 Th17 細胞への二次分化、または病原性 Th17 細胞の増殖、維持に寄与するといったことが考えられる。

【目的】

本研究は、腸管免疫系が有する固有の T 細胞免疫機能の炎症シグナル制御機構を解明し、自己免疫疾患の新規治療法への応用を目指すものである。近年、抗原特異的 T 細胞の病原性獲得と疾患発症には、標的組織近傍の所属リンパ節とは異なる生体内部位での特殊な制御が必要であることが示唆されている。本研究は特に病原性 Th17 細胞の供給源としての腸間膜リンパ節の役割に着目し、腸間膜リンパ節における Th17 細胞の活性化、維持機構の全身性 T 細胞免疫反応への作用機序を明らかにし、新規の免疫系制御システムを見出すことを目指す。

【方 法】

申請者らは、MLNの全身性免疫反応への寄与について *in vivo* で検証するため、MLNを外科的に切除する独自の手法を確立した。MLN切除(MLX)マウス群および対照手術群に、MOGペプチド免疫によりEAEを誘導したところ、MLX群においてEAEの重症度に有意な抑制が認められ、MLNがEAE病態形成に寄与することがわかった(図1、未発表)。

そこで本研究では、腸間膜リンパ節での病原性T細胞形成、維持、活性化機構の解明のため、以下の実験を行う。

1. MLNが病原性T細胞の初期プライミングとその後の病原性T細胞増殖、活性化、病態形成に寄与するか検証するため、MOGペプチドで感作した病原性CD4⁺ T細胞をマウスに移植して惹起するpassive EAEにおいて、そのドナー又はレシピエントマウスにMLN切除術を行い、対照群との病態を比較する。
2. さらに、MLNでの病原性T細胞形成へのgp130サイトカインシグナルの関与を検討するため、EAEの各病期毎にMLNにおける各免疫細胞でのgp130と各リガンド及びTRAF5の発現、STAT3活性化状態をタンパク質レベルで解析する。特に高い

発現の見られた細胞集団とリガンドを絞りTRAF5欠損マウスにEAEを誘導し、MLNでの免疫細胞活性化の亢進、EAE発症への寄与をin vivoで検討する。

【結 果】

1. passive EAEにおいて、そのドナー又はレシピエントマウスにMLN切除術を行い、対照群との病態を比較した結果、MLN切除したドナー由来のT細胞を移入した群で、EAE発症の減弱傾向が認められた。しかしながら、統計的に有意な差は得られなかった。一方、MLN切除を行ったマウスをレシピエントとし、野生型マウス由来の病原性T細胞を移入した結果、野生型マウスをレシピエントとした群と比較して顕著な差は認められなかった。

さらに、EAE以外のT細胞依存性免疫疾患モデルにおけるMLNの関与を検討するため、GVHDモデルについても検討を行った。MLN切除後に放射線照射したBALB/cマウスにC57BL/6マウス由来骨髄細胞、CD4T細胞を移入しGVHDを誘導した結果、MLN切除により病態の減弱が認められた。

2. gp130及び各リガンドの組織における発現については、現在検出系の条件を検討中である。

TRAF5の発現については、免疫組織染色により腸管組織での発現を検証したところ、高い発現は認められなかった。

また、これまでにmRNAレベルでの発現解析から、TRAF5は特にリンパ球での発現が高く、CD4T細胞、CD8T細胞で発現が見られ、B細胞で特に高い発現が見られるが、マクロファージ、NK細胞では発現が低いことがわかっている。各組織においては肺及び肝臓でTRAF5の発現が認められている。

【考 察】

1. passive EAE の結果から、MLN の EAE 発症における寄与は部分的なものであると考えられる。とくに MLN は、抗原免疫後の T 細胞の初期プライミングに寄与し、その後の病原性 T 細胞の活性化や病態の維持は必須ではないことが示唆された。GVHD モデルにおける結果からも MLN がその発症の増悪に寄与する可能性が示唆されている。

これらについて、さらに実験系を改善し、Th17 細胞の生成等を中心に詳細な制御機構の解析を進めていきたい。

2. サイトカインシグナルの TRAF5 による制御と腸管免疫系の機能については、まだその関連性を示す結果が得られていない。しかしながら、TRAF5は他の組織においても発現が認められたことから、いくつかの病態モデルにおいて検証を行い、寄与を明らかにしていきたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、病原性 Th17 細胞が腸間膜リンパ節において特有の機構により何らかの特殊な修飾を受け活性化し、多くの自己免疫疾患発症に関与する、という仮説に基づく。この仮説は申請者が独自に考えた全く新しい概念であり、これを解明する意義は大きい。さらに、TRAF5 という TNFR ファミリーのシグナル分子が IL-6 のようなサイトカインシグナル伝達を制御するという発見は、これまでにない新しい知見である。このような申請者独自の視点から、腸管免疫系による T 細胞の活性化、病原性獲得への役割を明らかにし、多くの自己免疫疾患発症に寄与する普遍的制御機構を見出すことは、新規治療法開発への応用に貢献する大変意義深いものである。

【参考・引用文献】

1. Kawabe T, Sun S, Fujita T, Yamaki S, Asao A, Takahashi T, So T, and Ishii N.: Homeostatic Proliferation of Naive CD4⁺ T Cells in Mesenteric Lymph Nodes Generates Gut-Tropic Th17 Cells. *J Immunol*, 190:5788-5798; 2013
2. Nagashima H, Okuyama Y, Asao A, Kawabe T, Yamaki S, Nakano H, Croft M, Ishii N, and So T.: The adaptor TRAF5 limits the differentiation of inflammatory CD4+ T cells by antagonizing signaling via the receptor for IL-6. *Nat Immunol*, 15:449-56, 2014