



T-bet regulates differentiation of Foxp3+ regulatory T cell in programmed cell death-1-deficient mice

著者	田原 昌浩
内容記述	この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています
発行年	2016
その他のタイトル	PD-1欠損マウスにおいてT-betはFoxp3+制御性T細胞分化を制御する
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2015
報告番号	12102甲第7864号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00144407

論 文 概 要

- 論 文 題 目 T-bet regulates differentiation of Foxp3⁺ regulatory T cells in programmed cell death-1-deficient mice
(PD-1 欠損マウスにおいて T-bet は Foxp3⁺制御性 T 細胞分化を制御する)
- 指 導 教 員 人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 住田孝之 教授

(所 属) 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻

(氏 名) 田原 昌浩

目的： 転写因子 T-bet により分化誘導され炎症性サイトカインを産生する Th1 細胞は、全身性エリテマトーデス、腸炎、接触性皮膚炎などの自己免疫疾患の病因に関係していると考えられている。これらの疾患の病因を解明するためには、Th1 細胞の活性化調節機構を明らかにすることが重要である。我々が注目した Programmed cell death-1 (PD-1) は T 細胞抑制受容体であり、PD-1 を欠損したマウス (PD-1KO マウス) は T 細胞の異常活性化によって、マウスの系統毎に様々な自己免疫疾患を自然発症すること、PD-1 シグナルを欠損することで制御性 T (Treg) 細胞が減少することが報告されている。また T-bet が PD-1 の発現を抑制することは報告されているが、PD-1 が T-bet 発現や Th1 細胞の分化にどのように影響するかは明らかとなっていない。

本研究では、T 細胞でのみ T-bet を過剰発現する T-bet トランスジェニック (T-bet Tg) マウスと PD-1KO マウスを交配 (以下 P/T マウスと称す) し、PD-1 が Th1 細胞の分化及び機能と自己免疫病態に与える影響を明らかにすることを目的とした。

対象と方法： 作出した P/T マウスにおいて生存状態や成長状態の確認、HE 染色により各臓器の炎症性細胞浸潤の有無を検討した。脾細胞を蛍光抗体で染色して FACS により脾臓 CD4⁺T 細胞のサイトカイン産生および転写因子発現を検討し、in vitro において CD4⁺T 細胞から Foxp3⁺Treg 細胞の分化誘導を行った。また、早期死亡および臓器炎症の原因を明らかにするため、RAG2 欠損 (RAG2KO) マウスへ脾細胞を移入し各臓器の炎症性細胞浸潤の有無の検討、RAG2KO マウスへの P/T 由来 CD4⁺CD25⁺細胞移入時および Wild Type (WT) 由来 CD4⁺CD25⁺細胞を Treg 細胞として共移入した時の各臓器の炎症性細胞浸潤の有無を検討した。

結果： P/T マウスは体重増加不良が認められ、生後 10 週程度で死亡した。早期死亡の原因を明らかにするために施行した病理学的検討においては肝臓、脾臓、腸管、皮膚で炎症性細胞浸潤が認められた。FACS による検討では、脾臓中の T-bet⁺IFN γ ⁺CD4⁺T 細胞の増加 (WT: 1.89 \pm 0.18%, PD-1KO: 3.76 \pm 1.00%, T-betTg: 25.1 \pm 3.89%, P/T: 52.9 \pm 8.57%) および Foxp3⁺Treg 細胞の著しい減少 (WT: 13.4 \pm 0.63%, PD-1KO: 16.9 \pm 2.15%, T-betTg: 19.1 \pm 2.55%, P/T: 2.47 \pm 1.31%) が認められた。Foxp3⁺Treg 細胞減少の原因を明らかにするため、Foxp3⁺Treg 細胞への分化誘導を実施したが分化は抑制された (WT: 25.3 \pm 2.56%, PD-1KO: 22.2 \pm 1.85%, T-betTg: 13.2 \pm 0.70%, P/T: 0.24 \pm 0.08%)。

早期死亡および臓器炎症の原因を明らかとするために RAG2KO マウスに脾細胞を移入して病理学的に評価した結果、P/T マウス由来脾細胞の移入によって P/T マウスと同一組織で炎症性細胞浸潤病変が得られ、さらに P/T マウス由来 CD4⁺CD25⁺細胞移入によっても肝臓、膵臓、腸管、皮膚に P/T マウスと類似した炎症性細胞浸潤病変が認められた。一方、WT マウス由来 Treg 細胞との共移入によって各臓器の炎症性細胞浸潤が消失した。

考 察： 先行研究において、Foxp3 を欠損した Scurfy マウスは血中の様々なサイトカインの高値、肝臓、膵臓、耳皮膚などで組織炎症を起こし、生後 3-5 週の早期に死亡するなどの表現型を示すことが報告されており、P/T マウスの表現型と類似していることから、P/T マウスの早期死亡と全身炎症は、単に Th1 細胞の異常増加のみによるものではなく Foxp3⁺Treg 細胞の著しい減少が関与していると仮定した。

P/T マウス由来の脾細胞もしくは CD4⁺CD25⁺エフェクター T 細胞を移入した RAG2KO マウスで認められた P/T マウス様の炎症性細胞浸潤巣は、WT マウスの CD4⁺CD25⁺細胞 (Treg 細胞) の共移入により消失した結果は仮定を支持した。

P/T マウスにおける Foxp3⁺Treg 細胞の減少については、in vitro において CD4⁺T 細胞からの Foxp3⁺Treg 細胞の誘導が著しく抑制されることを見出したが、正確なメカニズムを明らかにする事はできなかった。Foxp3⁺Treg 細胞減少の原因としては、PD-1 シグナルが Treg 細胞分化、形質の維持、そして機能に重要である可能性、過剰な IFN γ により活性化した JAK/STAT1 経路を介して Foxp3⁺Treg 細胞分化を抑制した可能性、T-bet の過剰発現が直接的に Foxp3⁺Treg 細胞への分化を抑制した可能性が想定されるが、詳細を明らかにするためには更なる検討が必要と考えられる。

結 論： Th1 細胞分化の制御および Foxp3⁺Treg 細胞の分化誘導に PD-1 は関与していることが示唆され、PD-1 を欠損した CD4⁺T 細胞は、Th1 細胞の増加と Foxp3⁺Treg 細胞の著しい減少を原因とした致死的な全身性の炎症病態を引き起こす可能性が示唆された。