

加齢に伴う免疫不全のメカニズム解析 ～サイトカイン分泌異常マウスをモデルとして～

[1] 組織

代表者：竹馬 俊介

(京都大学・医学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費60万円

[2] 研究経過

加齢にともない、自己、非自己の認識の緩みによる自己反応性T細胞の出現や、免疫応答性の低下など種々の免疫異常が起こってくるのが知られている。慢性関節リウマチに代表される自己免疫疾患は、高齢者に多発し、胸腺でのT細胞選択能の低下による自己反応性T細胞の出現、および、抹消でのT細胞異常、と密接に関係している。

申請者はこれまで、加齢にともなって自己免疫疾患を自然発症するPD-1遺伝子欠損マウスの解析から、抹消T細胞のIL-2産生が自己免疫疾患に深くかかわっていることを明らかにしてきた。生体内で、IL-2が過剰に発現すると、自己反応性T細胞の不应答性が解かれ、自己免疫疾患の原因となり得る。逆に、IL-2の分泌不全は制御性T細胞の機能不全を起し、同じく自己免疫疾患の発症につながることを示されている。そこで、加齢による自己免疫疾患にもIL-2の調節不全が関わっていると考えた。

一過性のIL-2発現には、T細胞レセプターによって活性化される生化学的経路が詳細に解析されているが、核内でIL-2の転写を長期にわたって調節する因子はよく分かっていない。代表者はこの点に着目し、今までのスクリーニング実験により、IL-2の発現制御因子として、核内タンパク質であるTRIM28分子を新規に同定した。当研究では、申請者が独自に作成した、TRIM28遺伝子欠損マウスを用いて、加齢変化に伴うT細胞異常をIL-2産生機構の観点から追究することを目的とする。

昨年までの研究で、(T細胞におけるTRIM28の機能を解析するため、TRIM28の機能エクソンを、大

腸菌由来Lox配列で挟んだマウス(TRIM28^{Lox})を、Lckプロモーター-CREトランスジェニックマウス(Lck-CRE)に交配し、コンディショナルノックアウトマウス(以下CKO)を作製、CKOを、6か月程度飼育することにより、これらマウスが、リンパ球数の増加にともなうリンパ組織の肥大、自己抗体の産生といった自己免疫様の症状を示すことを見出している。また、マイクロアレイ解析により、CKO由来T細胞では、免疫調節性サイトカインであるTGFβ遺伝子が過剰発現することがわかり、病態との関連が示唆された。

以下、本年度研究活動状況の概要を記す。

代表者は、平成25年2月8日に、本研究に関わる成果を「東北大学免疫科学コアセンター」において発表した。質疑応答では、東北大学医学部、および加齢研メンバーとの活発な討議を行うことができた。また、セミナーの前後には加齢研にて、対応者である小笠原博士との間で、今後のプロジェクトの方向性について討論した。また、小笠原研究室のメンバーと、最新のデータについて討論した。結果、当研究を今後どのように発展させるかについて多くの建設的な提案を受けることができた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

1) CKOにおける自己免疫発症のメカニズム

自己免疫様症状を自然発症する以前の、若いCKOマウスに対し、脳抗原である、ミエリン塩基性タンパク由来ペプチドを免疫し、実験的脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalitis; EAE)を誘導するとCKOマウスは、野生型コントロールマウスと比較して、重篤、かつ長期にわたる病状を示す。この病態に、CKOで過剰発現しているTGFβが関わるかを検討するため、EAE誘導時に、TGFβの中和抗体を同時投与した。その結果、CKOに見られた重篤なEAE症状が、野生型と同程度まで回復することが示された。このことから、TRIM28による特定の遺伝子発現抑制がナイーブ→メモリー細胞への移行や自己炎症性T細胞の抑制を介して自

己免疫疾患を抑制することが明らかとなった。

2) 自己免疫関連遺伝子抑制機構の生化学的解析

TRIM28 が、ナイーブ T 細胞において TGF β 遺伝子をエピジェネティック調節するメカニズムにつき、生化学的方法を用いて検討した。ホルマリン固定、および超音波破碎したマウス T 細胞より、クロマチン免疫沈降法を用いて TRIM28 を免疫沈降し、TGF β 3 遺伝子の調節領域を検出するプライマーで、TRIM28 の当該領域への会合を検討したところ、エクソン 1 の終末にある N 領域への会合が見られた。次いで、この N 領域付近のクロマチン修飾を、野生型、および CKO 由来 T 細胞で比較したところ、野生型では抑制型修飾パターン (H3K9 メチル化) が見られたが、CKO ではメチル化の解除と活性型修飾パターン (H3K9 アセチル化) が見られた。以上の結果から、TRIM28 の会合が当該遺伝子のクロマチン修飾を介して遺伝子発現の抑制を起し、これによって自己反応性 T 細胞を調節している可能性が示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究では当初、加齢にともなう IL-2 調節の観点から TRIM28 分子に注目したが、TRIM28 がクロマチン修飾を介して TGF β をはじめとする多くの免疫関連遺伝子の調節に関わっていることがわかってきた。今回の結果はノックアウトマウスの表現型解析より得られたものであるが、ヒトにおいても、加齢に伴う自己免疫疾患の発症に、TRIM28 をはじめとするクロマチン調節機構の緩みに関わる可能性が考えられる、今後は、この仮説を検討することによって、自己免疫の発症機構を包括的に理解する研究へと発展させる予定である。

[4] 成果資料

1) Chikuma S et al. *Nat. Immunol.* 13 : 596-603, 2012.

2) 竹馬 俊介 医学のあゆみ in press