

課題番号 18

## モデルマウスを用いた自己免疫応答の個体差・加齢変動の解析

### [1] 組織

代表者：宮寺 浩子

(筑波大学医学医療系)

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 20 万円

### [2] 研究経過

獲得免疫系は成長・加齢に伴い、量的、質的に著しく変動する。加齢に伴う変化としては胸腺の委縮やそれに伴う T 細胞サブセットの変化などが知られている。このような変化の結果、感染症に対する免疫応答能は加齢に伴い低下する。一方、自己免疫疾患ではその発症率が年齢層によって著しく異なることが知られており、その機序には免疫系の老化も寄与していると考えられる。本研究では自己免疫疾患の一つである 1 型糖尿病について、自然発症モデル (non-obese diabetic (NOD)マウス) を用いた解析を行い、加齢による発症率の変化および、発症機序の全体像を明らかにすることを目的として研究を行っている。

自己免疫疾患は免疫系が自己の細胞を異物と認識して攻撃することで引き起こされるが、根本的な機序は不明である。自己免疫疾患の多くは、主要組織適合性抗原(MHC)(ヒトではヒト白血球抗原(HLA))遺伝子と強く関連する。MHC/HLA クラス II は自己・非自己抗原(9-25 アミノ酸残基)をペプチド結合溝に結合し、CD4 陽性 T 細胞に提示する役割を担う。ペプチドと相互作用するアミノ酸残基に多型が多く保持されており、個人間での多様性が大きい遺伝子座である。また、自己免疫疾患や感染症などに対する関連遺伝子としても知られている。

1 型糖尿病は膵β細胞に対する自己免疫反応によりインスリン産生細胞が脱落し、インスリン産生能が著減、消失する自己免疫疾患である。発症には遺伝要因と環境要因の両方が関与し、遺伝要因のうち最も強く関わるのが HLA クラス II である。日本人患者および欧米系の集団において、約 9 割が特定の HLA クラス

II ハプロタイプを持つ事が報告されている。小児期から成人期にかけての発症が多いが、その後、発症する場合もある。なぜ、特定の HLA 遺伝型を持つと疾患を発症しやすくなるのか、そのメカニズムは明らかにされていない。

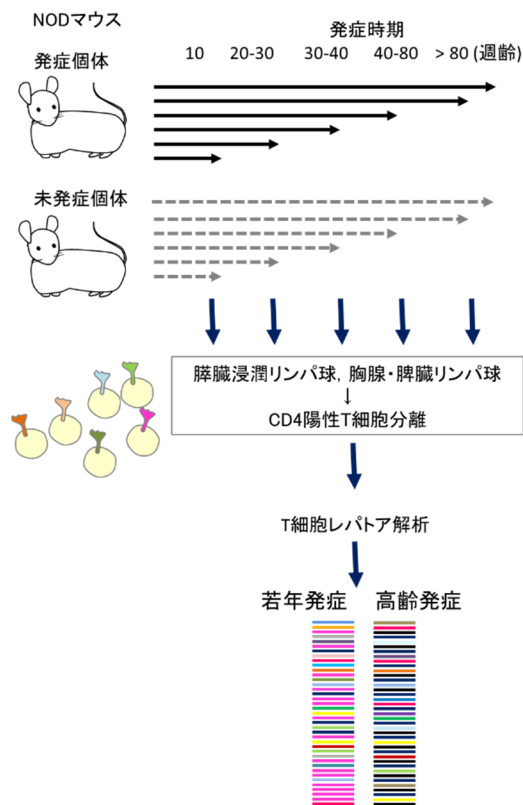
本研究で解析対象とする NOD マウスは、ヒトと同様MHC 遺伝子と関連して 1 型糖尿病を自然発症する。NOD マウス(雌)では 8 割以上の個体が 40 週齢以下で 1 型糖尿病を自然発症するが、少数の個体は 40 週齢以上で発症し、ごく少数の個体は生涯(100 週齢以上)に渡り 1 型糖尿病を発症しない。遺伝背景および生活環境が同じであるにも関わらず、自己免疫発症に個体差が生じる仕組みは明らかではないが、その要因として、自己反応性 T 細胞を生じる時期や、生じる TCR 配列が個体間で異なることが関与する可能性がある。そこで本研究では、自己免疫疾患と TCR 多様性との関係および、加齢による TCR レパトアの変動を明らかにすることを目的として、NOD マウスの T 細胞受容体 (TCR)配列解析を行った。具体的には、NOD マウスの 1 型糖尿病発症個体・非発症個体での脾臓および膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞の TCR 配列の解析を行った。発症時期が異なる個体の検体を収集し、約 10, 30, 50, >90 週齢での発症個体・非発症個体の TCR 配列解析を行った (図 1)。

令和 2 年度は、新型コロナウイルスの蔓延により、東北大学における共同研究打ち合わせはできなかった。そのため、打ち合わせはメールにて行い、データ解析は対応者 (東北大学・加齢医学研究所・小笠原康悦) が管理するサーバ上で行った。また、新型コロナウイルスによる研究自粛期間もあったことから、研究の進捗状況は当初計画どおりにはなっていない。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。1 型糖尿病発症前、発症後の NOD マウスを対象として膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞の分離と TCR 配列解析を実施し、同一個体の膵臓 CD4 陽性 T 細胞レパトアと比較した。その結果、膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞では脾臓と比べて T 細胞レパトアの多様性が低く、特定の複数の配列



**図1 モデルマウスを用いた T 細胞受容体レパトアの加齢変動の解析**

NOD マウスの1型糖尿病自然発症個体・非発症個体(10 週～90 週齢)における膵臓・胸腺・膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞の受容体配列レパトアを解析し、若年発症・高齢発症例におけるレパトアの変動を解析した。

が蓄積していた。このことから、1型糖尿病を発症した NOD マウスの膵臓では、少種類の T 細胞がクローナルに増殖していることが推測された。これらの膵臓浸潤 CD4 陽性 T 細胞の配列を先行研究と比較し、特徴の抽出を行った。また、各 T 細胞の TCR $\alpha$ , TCR $\beta$  鎖ペアの配列と組み合わせを明らかにするため、TCR レパトア解析を実施した各個体について、膵臓浸潤 T 細胞を採材、凍結保存した。今後、これらの細胞を用いてシングルセル PCR を行い、若年・高齢発症例に特徴的な TCR 配列を同定することにより、免疫変動や自己抗原の違いなどについての知見が得られることが期待される。

### (3-2) 波及効果と発展性など

MHC は免疫応答の個体差を決める主要因の一つであることから、本共同研究で実施する TCR 配列解析により MHC/HLA の多型と TCR 多様性との関係性の一端が明らかになり、自己免疫疾患および加齢に伴う

TCR 配列の変動を明らかにできる可能性がある。これらの知見は、自己免疫疾患、アレルギー、がん免疫などでの HLA 遺伝型に基づいた個別化医療を進める上でも有用である。

また、免疫系の老化と、自己免疫応答との関係を明らかにすることで、自己免疫応答の進行を抑制するための治療・予防法の開発につながる知見が得られる可能性がある。本研究の結果は現時点ではまだ発表していないが、これまでに得られた成果には新規知見が多く含まれるため、今後、個体の老化に伴う免疫変動や、自己免疫疾患発症メカニズムの分子機序についての研究が発展することが期待される。

[4] 成果資料  
該当なし (投稿準備中)