

課題番号 10

免疫疾患モデルマウスを用いた免疫応答の加齢変動の解析

[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)

分担者：なし

研究費：物件費 10 万円，旅費 0 円

[2] 研究経過

獲得免疫応答は若年期と高齢期では質的・量的に異なることが知られており、ワクチン応答の世代間の違い等の現象としても認められる。加齢による免疫応答の減弱は胸腺の萎縮など免疫系を司る臓器、各免疫系細胞の機能変化、および生体のさまざまな加齢変化とのバランスの上に成立していると推測され、その仕組みを理解することは加齢後の免疫疾患の治療やワクチン開発を行う上で重要である。老化に伴う獲得免疫系の変動がどのような段階を経て起こるのか、そのプロセスは完全に理解されておらず、この過程を明らかにすることは獲得免疫系の基本的な仕組みの理解にもつながる。申請者はこれまでモデル動物 (non-obese diabetic mouse (NOD マウス)) を用いて 1 型糖尿病の発症率測定を行ってきた。NOD マウスは遺伝背景が均一なモデルマウスであり、1 型糖尿病を自然発症することから、獲得免疫系の加齢変動を捉える上で有用と考えた。1 型糖尿病はインスリンなど膵自己ペプチドを提示する主要組織適合性抗原 (major histocompatibility complex クラス II (MHC II)) を認識する T 細胞が膵臓に浸潤し、膵島のインスリン産生細胞 (β 細胞) を破壊することで発症に至る。NOD マウスは雌の 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、約 5-10% の個体は高齢 (40 週齢以上) で発症し、稀にごく少数の個体が超高齢 (80 週齢以上) で発症に至る。これまでの研究により、野生型 NOD マウスの若年発症個体と高齢発症個体とでは病態の進行速度が異なる傾向を示すことを見出した。

これらの背景に基づき、本研究は NOD マウスを用いて、1 型糖尿病発症・病態に関わるリンパ球構成および機能を見出し、若年発症・高齢発症個体間での認識抗原、膵臓浸潤 T 細胞および抗原提示細胞の質的・量

的な違いを明らかにすることを目的として行った。一連の研究により、若年発症群での病態進行を抑制する方法の開発など、1 型糖尿病の疾患研究が進展するのみならず、加齢後の免疫応答の特徴やそれを生じる過程について知見が得られると期待される。

本研究では、膵臓 T 細胞及び膵臓浸潤 T 細胞の受容体 (TCR) 配列解析を加齢研究所生体防御学分野との協力により実施した。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。

図に本研究の概要を示す。

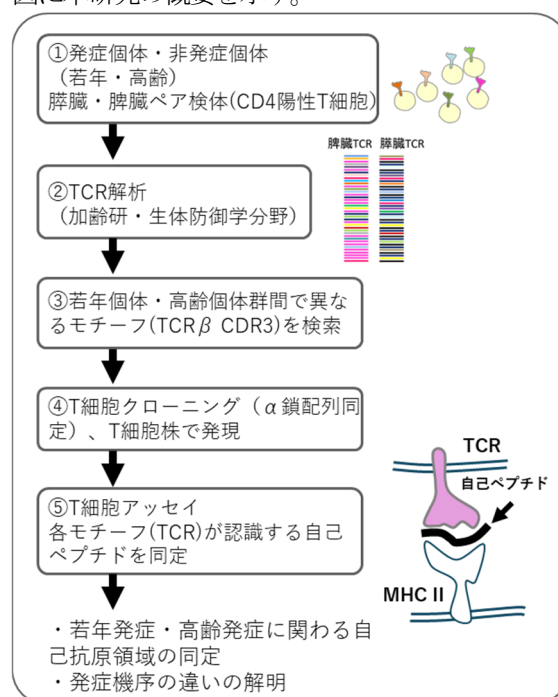


図 本研究の概要

[3] 成果

(3-1) 研究成果

NOD マウスを用いて、随時血糖値、尿糖値測定を 2 ~4 週間に 1 回行い、発症率を経時的に観察し、随時血糖値 (250mg/dL 以上) かつ尿糖値 100 mg/dL 以上の個体を発症個体とした。NOD マウスでは雌の 8 割以上の個体が 40 週齢前に 1 型糖尿病を自然発症するのに対し、5%ほどの個体は高齢 (40 週齢以上)、または超高齢 (80 週齢以上) で発症に至る。若年発症個体および、

発症時期が遅い個体を対象として、未発症・発症個体のペア検体の TCR 配列解析を行った。CD4+T 細胞の分離、RNA 抽出を行い cDNA を加齢医学研究所 生体防御学分野に送付し RNA 配列解析を行った。各変異株の未発症、発症個体（若年発症、高齢発症など）の脾臓、脾臓 T 細胞についてこれまでに約 40 検体以上の解析を実施した。これらの TCR の機能を解析するための発現系の構築を進めており、高発現株を短期間で得るために今後、ウイルス作成方法や導入試薬を検討する。また、MHC-ペプチド結合アッセイ系を用いて、ヒト HLA (DR9) と脾自己抗原の結合解析を行った。今後マウスの MHC についても結合能の解析を行う。

（3－2）波及効果と発展性など

加齢により獲得免疫応答が変化する機序は完全に解明されていない。本研究で TCR 解析データを基に若年発症個体、高齢発症個体間での自己抗原の違いの有無および免疫応答の違いを明らかにすることが出来れば、若年発症・高齢発症における自己免疫反応の量的・質的な違いを見出すことが出来る可能性がある。

〔4〕成果資料

（1）「1 型糖尿病感受性 HLA アリル（DR9）に結合する自己抗原（ZnT8）領域の探索」 宮寺浩子，森口 空，野口恵美子、第 52 回日本臨床免疫学会総会 2024 年 10 月 11 日