

課題番号 35

自己免疫疾患モデルマウスにおける T 細胞エピトープの加齢変動の解析

〔1〕組織

代表者：宮寺 浩子

(筑波大学・医学医療系・遺伝医学分野)

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 13 万円

〔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、加齢による免疫系の機能変化のメカニズムを理解することは、高齢期における自己免疫疾患の治療やワクチン開発において極めて重要である。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。正常な状態では、T 細胞は胸腺でのセントラルトレランスなどにより自己組織に対して寛容状態にあるが、何らかの理由で自己反応性の T 細胞が生じ、クローナルに増幅することで発症に至る。

1 型糖尿病は、インスリンなどの膵自己ペプチドを提示する MHC クラス II を認識する T 細胞が膵臓に浸潤し、インスリン産生細胞 (β 細胞) を破壊することで発症する。本研究で対象とする NOD マウスは、1 型糖尿病を自然発症するモデルとして有用であり、雌の 8 割以上の個体が 40 週齢前に発症する。しかし興味深いことに、約 5～10%の個体は高齢 (40 週齢以上)、稀に超高齢 (80 週齢以上) で発症する。申請者らはこれまでの研究で、若年発症の場合は病態の進行が速く血糖値が急激に上昇するのに対し、高齢発症の場合は大半で進行が緩やかである (血糖値が一定以上上昇しない) ことを見出している。遺伝背景や生活環境が均一であるにもかかわらず、なぜこのような発症時期の個体差が生じるのか、その仕組みは分かっていない。NOD マウスの膵自己抗原に関する既存の解析の多くは若年発症個体 (8-10 週齢) を対象としており、高齢発症例での免疫解析は十分に行われてこなかった。

これらの背景に基づき、本研究は NOD マウスおよび申請者らが独自に樹立した MHC 改変型 NOD マウスを用いて、若年発症個体と高齢発症個体間での認識抗原 (T 細胞エピトープ) や、膵臓浸潤 T 細胞の質的・

量的な違いの有無を明らかにすることを目的として、研究を遂行した。

以下、研究活動状況の概要を記す。本研究は、筑波大学・医学医療系・遺伝医学分野において、モデルマウスの経時的観察や細胞のサンプリング、自己抗原ペプチドと T 細胞の反応性解析 (ELISpot 解析など) を実施するとともに、特異的 T 細胞の T 細胞受容体 (TCR) の網羅的解析については、小笠原教授らが有する特許技術 (第三世代免疫受容体解析法) を用いて実施し、緊密に連携しながら研究を遂行した (図 1)。申請者は、これまでに小笠原康悦博士と共同研究を行ってきた実績があり、これまでに加齢研への訪問、研究の打ち合わせ、サンプルの送付と解析と準備を進めてきた経緯がある。本共同研究もこれまでの連携を生かして研究を進めた。その他、本共同研究の打ち合わせは、研究電子メールや Zoom 会議により行った。

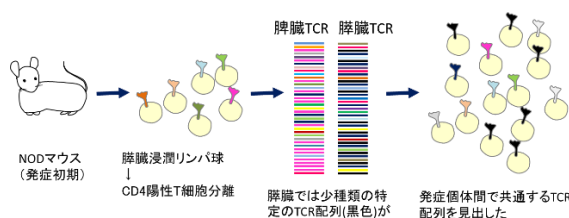


図1 膵臓浸潤T細胞のTCR配列解析

〔3〕成果

（3-1）研究成果

NOD マウスを用いて随時血糖値および尿糖値の測定を2～4週間に1回行い、発症率を経時的に観察した。随時血糖値 250mg/dL 以上かつ尿糖値 100mg/dL 以上の個体を発症個体とし、若年発症個体および発症時期が遅い高齢・超高齢発症個体を選別した。未発症・発症個体のペア検体から CD4+T 細胞を分離し、RNA を抽出した上で、加齢研・生体防御学分野へ送付して RNA 配列解析 (TCR 解析) を実施した。これまでに約 40 検体以上の膵臓および脾臓 T 細胞について解析を実施している。

また、得られた TCR の機能を解析するための発現系構築を進めており、高発現株を短期間で得るためのウイルス作製方法や導入試薬の検討を行っている。さらに、MHC-ペプチド結合アッセイ系を用いて、ヒト

HLA (DR9) と膵自己抗原 (ZnT8 等) の結合解析を行い、今後はマウス MHC との結合能解析へと展開する準備を整えた。

(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。本研究で得られる TCR 解析データを基に、若年発症個体と高齢発症個体間での自己抗原の違いや免疫応答の質的・量的な違いが明らかになれば、1 型糖尿病の病態解明や進行抑制法の開発に繋がる。さらに、ヒトにおいても発症時期の個人差が大きい 1 型糖尿病の理解を深めるだけでなく、老化に伴う免疫寛容の破綻の仕組みという、免疫学における根源的な問いに対する重要な知見を提供することが期待される。

[4] 成果資料

(1) 宮寺 浩子「HLA—ヒト MHC—」臨床免疫・アレルギー科, 84(2)116-121, 2025

(2) 森口 空, 宮寺 浩子, 野口 恵美子「1 型糖尿病自己抗原における HLA-DR9 結合領域の探索」第 8 回関東 HLA 研究会学術集会 2025 年 5 月