

平成 28 年 2 月 12 日

CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} 制御性 T 細胞は Fas/FasL 経路を介した 活性化 T 細胞の傷害により T 細胞の恒常性を維持する

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋 雅英）分子細胞免疫学の鈴木治彦（すずき はるひこ）准教授らの研究グループは、免疫制御に深く関わっている Fas/FasL 経路について、どの細胞集団がどのタイミングで、Fas/FasL 経路を使用して生体内で働いているかについて明らかにしました。

本研究成果は、米国学術誌「Proceedings of the National Academy of Science, USA」（米国時間 2016 年 2 月 11 日の電子版）に掲載されました。

Fas/FasL 経路は古くから知られているアポトーシス経路であり、免疫制御に深くかかわっています。しかし、生体内での役割についての詳細は、これまで明らかになっていませんでした。今回、研究グループは、細胞増殖を制御する活性を測定する *in vitro* 細胞培養実験系を新たに構築し、さらには、生体内での役割を見ることができる *in vivo* のアッセイを行い、CD8⁺T 細胞のうちどの細胞分画が制御活性を有するかを検討しました。その結果、*in vitro* の実験において CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} 分画が最も制御活性が高いこと、さらにマウス生体内 (*in vivo*) においてもこの分画の細胞による抑制が有効に機能していることを発見しました。また、Fas 分子の働かないマウスである *lpr* マウスと FasL の働かないマウスである *gld* マウスを用い、Fas/FasL 経路に異常のある系ではこの抑制経路が働かないことを *lpr* や *gld* マウス由来の T 細胞培養実験系 (*in vitro*) とマウス生体を用いた実験系 (*in vivo*) の双方においても証明しました。

この結果、これまで不明であった Fas 及び FasL が、どの細胞間で働き、いつ働くことが免疫制御にとって、どのような意味を持って重要なのかという問いに対して、答えが、活性化 T 細胞と CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} 制御性 T 細胞との間で働き、免疫反応の収束時に活性化 T 細胞にアポトーシスを誘導して、数を減らすという意味において重要であると導き出されます。さらに、MHC class I を発現しない遺伝子組み換えマウスである $\beta 2$ -microglobulin ノックアウトマウスの実験では、MHC class I 分子を欠損する CD8⁺T 細胞が、この抑制作用を受けません。このことにより、CD8⁺制御性 T 細胞が活性化 T 細胞を認識するためには、TCR と MHC class I との相互作用が必要であることが判明し、それを証明しました。

CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} 制御性 T 細胞は Fas/FasL 経路を介した活性化 T 細胞の傷害により T 細胞の恒常性を維持する

【ポイント】

- メモリー細胞様 CD8⁺細胞の中では、CD49d^{low} 細胞が CD49d^{high} 細胞よりも強い免疫制御活性を持つ
- CD8⁺制御性 T 細胞は TCR を用いて活性化 T 細胞を認識する
- CD8⁺制御性 T 細胞は、活性化 T 細胞に Fas/FasL 経路を介した細胞死を誘導することで免疫制御活性を発揮する

【背景】

免疫には適度の抑制が必要で、そのためにいくつもの異なったメカニズムで抑制（制御）が働くようになっています。制御性 T 細胞という特別な T 細胞が存在し、免疫応答を抑えていることがわかってきましたが、それは主に CD4⁺であり外来性抗原に反応する T 細胞 (CD4⁺Treg) であります。免疫応答全体のバランスをとりながら制御を行うには CD4⁺と並ぶもう 1 方の細胞集団である CD8⁺の内在性抗原に反応する制御性 T 細胞が必要と思われれます。研究グループはこれまで、CD122 (IL-2 受容体β鎖) ノックアウトマウスの作製と解析を行い (Science, 268:1472-6, 1995)、CD122 ノックアウトマウスに現れてくる異常活性化 T 細胞が何らかの制御性 T 細胞の欠落によるものである (J Exp Med, 190:1561-72, 1999) ことを明らかにしました。そして、それは CD4⁺Treg 以外に CD8⁺CD122⁺の中にもある (CD8⁺CD122⁺制御性 T 細胞、J Exp Med, 200:1123-34, 2004) ことを発表してきました。

このような免疫制御にかかわる分子の一つとして Fas と FasL があり、Fas は 1989 年に都立臨床研 (当時) の米原伸博士らによって発見された分子で、その遺伝子は 1991 年に大阪大学 (当時) の長田重一博士らによってクローニングされました。また、Fas の結合する相手である FasL の遺伝子も長田博士らによってクローニングされました。しかしながら生体内においてこれらの分子が、細胞レベルでどのように働き免疫制御を行っているのかの詳細は不明のままでした。

本研究成果によって、前述の CD8⁺CD122⁺制御性 T 細胞をさらに CD49d の発現によって絞り込むことができること、その制御機序が Fas/FasL 系を介した細胞傷害であることを明らかにしました。

【研究成果】

CD8⁺制御性 T 細胞 (CD8⁺CD122⁺細胞) をさらに詳細に見分ける細胞表面マーカー CD49d を見出し、中でも CD49d^{low} 細胞が活性化 T 細胞に対し最も強い細胞傷害作用を示すことを発見しました。図 1 で示す典型的な結果によると、CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} 細胞と CD8⁺CD122⁺細胞との共培養では、CD8⁺CD122⁺細胞の方が一方的に減ってしましますが、CD8⁺CD122⁺CD49d^{high} 細胞と CD8⁺CD122⁺細胞との共培養ではそれほどの減少はありません。図 2 グラフによってもはっきりわかります。

図 1

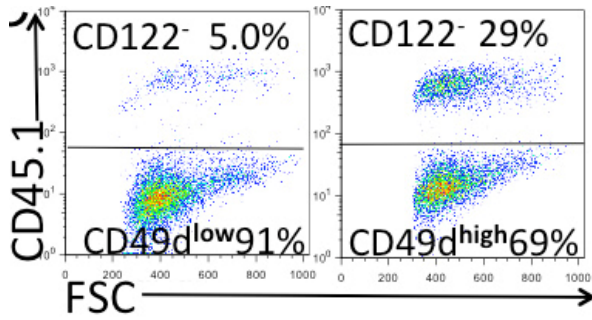
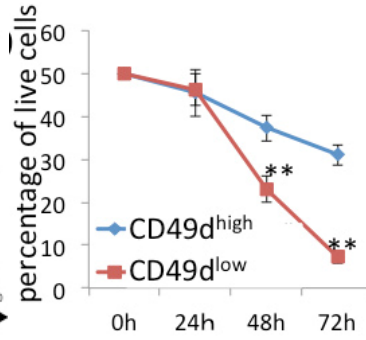


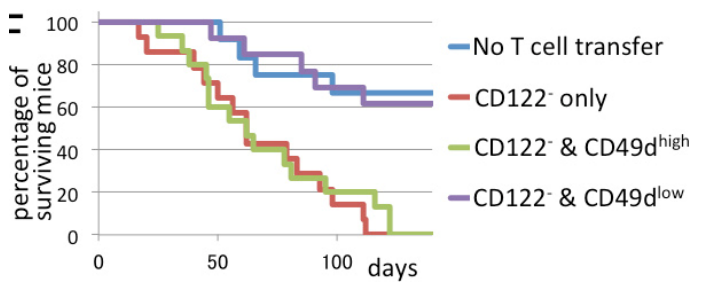
図 2



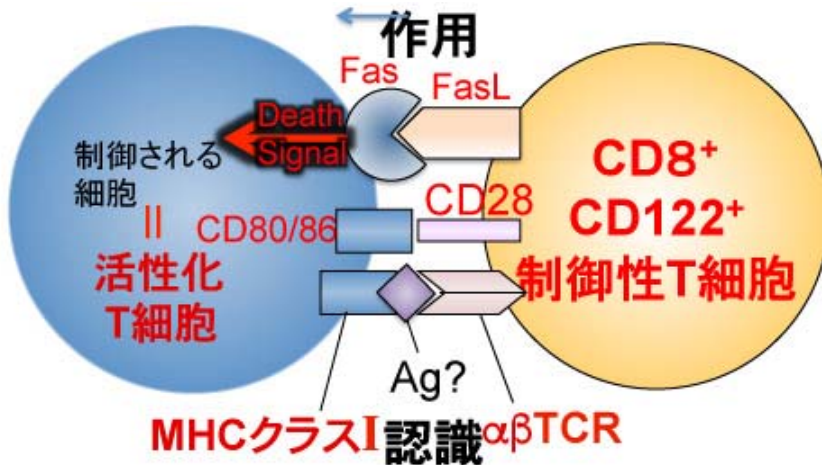
In vivo の実験においても、 $CD8^+CD122^-$ 細胞のみを輸注されたリンパ球欠損マウス ($RAG-2^{-/-}$) がどんどん死んでいくの に比べ、 $CD8^+CD122^+CD49d^{low}$ 細胞を加えて輸注されたマウスは長く生存しました。

これらの実験結果に加え、MHC クラス I を欠損した $\beta 2$ -microglobulin ノックアウトマウス由来の細胞を使った実験、さら

図 3



には Fas や FasL の変異マウスである *lpr* マウスや *gld* マウスを使った実験、あるいはそれらの変異マウスから採取した T 細胞を用いた実験などから、 $CD8^+CD122^+CD49d^{low}$ 細胞が生体内における免疫系の恒常性維持のために働く重要な制御性 T 細胞であることが確認され、同制御性 T 細胞はその制御の過程において MHC クラス I と TCR の結合を介して活性化 T 細胞を認識し、Fas/FasL 経路を用いてそれらの細胞を傷害することにより、免疫抑制作用を発揮していることが分かりました。



【今後の展開】

研究グループが同定したメモリー細胞様 $CD8^+$ 制御性 T 細胞 ($CD8^+CD122^+CD49d^{low}$ 細胞) はその細胞表面マーカー、機能分子ともに免疫記憶の中心的存在であるメモリー T 細胞と大変よく似通っています。今後は、制御性 T 細胞とメモリー T 細胞の異同を念頭に置いた研究が必要となります。Fas/FasL 経路は古くから知られているアポトーシス経路であり、免疫制御に深

くかかわっていることが明らかとなっておりますが、生体内でどのタイミングで、どの細胞集団が Fas/FasL 経路を用いて働いているかは不明でした。今回の研究によって CD8⁺制御性 T 細胞の制御作用に働くことがわかりましたが、その他の免疫抑制に働く分子 (PD-1 など) との関連も含めて今後は明らかにしていきたいと考えています。

さらに、研究グループで開発した遺伝子組換えマウスの解析により、この CD8⁺CD122⁺CD49d^{low}T 細胞が腸炎、貧血、顆粒球の異常増殖など多くの免疫異常に深くかかわっていることが示されました。これらのマウスを用いた解析の展開は、特に患者数の多い潰瘍性大腸炎やクローン病の治療ターゲットを探索する上で極めて有望であり、今後新たな腸炎モデル動物、及び治療法の開発に繋げていきたいと考えています。

【用語説明】

制御性 T 細胞

T 細胞の一部に免疫応答を抑える働きを持った細胞が存在することは、随分以前より言われていました。初めてそのような細胞が存在すると公表されたのは、1971 年に開かれた第 1 回の国際免疫学会での千葉大学 (当時) の多田富雄博士の発表とされます。その後多田博士らの提唱した抑制性 (サブプレッサー) T 細胞は、関連する I-J 遺伝子の矛盾などの理由から表舞台から降りますが、抑制力を持つ T 細胞を「制御性 T 細胞」と名を変えて表舞台に立たせたのが京都大学 (当時) の坂口志文博士でした。坂口博士は、制御性 T 細胞を CD4⁺細胞のみに限定し、その中の CD25⁺細胞に絞り込むことで制御性 T 細胞を確実にとらえることに成功しました。以後、CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞に関する研究は飛躍的に進み、同制御性 T 細胞に極めて特異的であるのみならず制御性 T 細胞になることを規定してしまう Foxp3 の発見と相まって、免疫学研究の中の一大領域を形成するに至りました。

【発表雑誌】

Akane K, Kojima S, Mak TW, Shiku H, Suzuki H. CD8⁺CD122⁺CD49d^{low} regulatory T cells maintain T-cell homeostasis by killing activated T cells via Fas/FasL-mediated cytotoxicity. Proceedings of the National Academy of Science, the United States of America. 2016; (米国時間 2016 年 2 月 11 日 web 版掲載)

English ver.

http://www.med.nagoya-u.ac.jp/english01/dbps_data/material/nu_medical/en/res/ResearchTopics/2015/CD8_20160211en.pdf