

京都大学	博士 (医学)	氏名	中西保貴
論文題目	Regulatory T cells with superior immunosuppressive capacity emigrate from the inflamed colon to draining lymph nodes (優れた免疫抑制能を有する制御性 T 細胞が、大腸炎病巣から所属リンパ節へ遊走する)		
(論文内容の要旨)			
<p>Foxp3⁺ 制御性 T 細胞(Treg)は、他の免疫細胞の機能を抑制する事で免疫寛容や恒常性の維持に大きな役割を果たす。大腸環境では Clostridium 属などの腸内細菌が Treg の誘導に寄与しており、また Treg が大腸炎制御に重要な役割を担い、Treg の機能分子である IL-10、CTLA-4、LAG-3 が大腸炎の改善に関与する事が知られている。今研究では、紫色の可視光で KikGR-Green(KikG) から KikGR-Red(KikR) に変色する Kikume Green Red(KikGR) を導入したマウスを用い、盲腸・上行結腸(近位結腸)に光照射を行い、照射部細胞を緑から赤に標識し、一定時間経過後に大腸から他臓器に移動した Treg(KikR Treg) に着目した。KikR Treg の所属リンパ節(DLN)を含む全身への分布、大腸炎環境下での大腸炎病巣からの細胞移動の変化や移動細胞の免疫抑制能を検討した。</p> <p>リンパ組織が GFP で標識された Prox1-GFP マウスでは、近位結腸の輸入リンパ管は数珠状の腸間膜リンパ節の回盲部側(distal part of mesenteric lymph node; dMLN)にのみ合流する事、近位結腸光照射後 24 時間時点で KikR CD103⁺ 樹状細胞が dMLN のみで検出された事より、dMLN が近位結腸の DLN と判断した。近位結腸から移動する T 細胞は、全身のリンパ組織で観察されたが、dMLN に多く集積した。T 細胞の腸管からの脱出に関わる S1PR1 のアンタゴニスト FTY720 を投与すると、光照射 24 時間後の結腸内 KikR T 細胞が増加し、dMLN の KikR T 細胞の割合が低下する事より、T 細胞の大腸からの脱出が抑制される事を確認した。dMLN へ移動した KikR Treg は、他のリンパ節へ移動した Treg や、すでに dMLN に存在していた Treg と比較し、CD103、ICOS、LAG3、CTLA-4 発現細胞を多く認めた。</p> <p>3%デキストラン硫酸水溶液による大腸炎誘導モデルでは、大腸、dMLN にて Treg の細胞増殖・分裂が亢進し、dMLN から大腸への移動も亢進した。特に大腸炎にて誘導される CD25 高発現の CD25⁺⁺ Treg では、高い細胞増殖能と、CD103、ICOS、LAG3、CTLA-4 の発現増加を認めた。KikGR マウスに大腸炎を惹起すると、大腸光照射後 24 時間での Treg の KikR の割合が、定常状態と比較し低下を認め、Treg の大腸から dMLN への選択的な移動は亢進した。他の effector T 細胞では有意な変化を認めず、Treg 特異的な細胞移動であり、CD25⁺⁺ Treg ではより顕著な傾向であった。</p> <p>さらに dMLN では、大腸から dMLN へ移動した KikR Treg は、それまでに dMLN に存在していた KikG Treg と比べ、CTLA-4 発現、PMA/ionomycin 刺激下での、IL-10 産生細胞の割合が高かった。また抗 CD3ϵ/CD28 抗体刺激 CD4⁺CD25⁻ 細胞増殖阻害試験にて、KikG Treg と比較し、KikR Treg は高い増殖抑制を認めた。以上より、①大腸から全身に Treg は移動するが、DLN に多く集積する事、②大腸炎惹起にて、大腸炎病巣の Treg の入れ替わりが亢進し、大腸炎巣から DLN への Treg の選択的な移動が増加する事、③DLN 内では、大腸由来の Treg は高い免疫抑制能を有する事が示された。優れた免疫抑制能を有する Treg の大</p>			

腸一

DLN 間での循環が大腸炎改善に關与する可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

大腸は制御性 T 細胞 (Treg) 誘導に關わる臓器で、Treg の免疫抑制能が大腸炎改善に寄与する事は広く知られている。しかしながら、大腸炎での Treg の細胞動態と免疫抑制能との關連性については解明されていない。

申請者は、光変換タンパクである KikGR を knock-in したマウスを使用し、大腸に存在する Treg の細胞移動を可視化することにより、正常時/大腸炎時の所属リンパ節(DLN)を含めた全身への Treg の移動と、その移動による免疫抑制能を評価した。

マウス腸間膜リンパ節の解剖学的特性を検証し、同リンパ節内での盲腸・上行結腸部の DLN を特定した後、正常時には盲腸・上行結腸壁内 Treg は、DLN を含む全身のリンパ節や脾臓に移動する事が明らかとなった。デキストラン誘導性大腸炎では、Treg は大腸炎病巣から DLN への移動が選択的に亢進していた。大腸炎病巣から DLN へ移動した細胞は、DLN にすでに存在していた細胞と比較し、CTLA-4 発現細胞を多く認め、IL-10 分泌能・エフェクター T 細胞の増殖抑制能が優れていた。

本研究は、大腸炎制御に關わる Treg の動態と免疫学的特徴、病状改善に關わるメカニズム解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 10 月 3 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。