



## プレス通知資料（研究成果）

本件配布先：文部科学記者会、科学記者会、本町記者会

2024年2月8日

国立大学法人東京医科歯科大学

### 「老化したマウスの腸管において増加する特徴的な異なる2つのT細胞集団を同定」 — 腸管の免疫老化機構解明への第一歩 —

#### 【ポイント】

- 加齢に伴って体内に蓄積し、炎症因子を分泌して周囲の細胞の老化を促進する老化 T 細胞が老化における治療標的として注目されています。
- “老化しにくい臓器”である腸管は独自の免疫機構を持ちますが、腸管免疫の老化に関してはほとんど知られていません。
- 研究グループは腸管免疫系、特に老化において重要な役割を持つ T 細胞の加齢に伴う変化について詳細な解析を行ないました。
- 老化したマウスの小腸において、腸管特異的な 2 つの CD4<sup>+</sup> T 細胞集団が増加することを同定し、これらが腸管の老化抑制や長寿に関わる可能性が示唆されました。

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 消化器病態学分野の岡本隆一教授と根本泰宏准教授、米本有輝大学院生の研究グループは、老化したマウスの小腸において、特徴的な 2 つの T 細胞集団が増加していることをつきとめました。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 *Frontiers in Immunology* に 2024 年 1 月 22 日 オンライン版で発表されました。

#### 【研究の背景】

現代は世界的に歴史上類を見ない超高齢化社会を迎えており、医学的、社会的な対策が喫緊の課題となっています。無機物の経年劣化とは異なり、構成元素が常に入れ替わる生物の老化は将来的に“治療”できる可能性が示唆されています。免疫システムは慢性炎症を介して老化を促進することが知られており、特に長命な T 細胞の老化が重要であると考えられています。細胞レベルでは増殖能が低く、TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  など炎症性サイトカインなどを分泌する老化 T 細胞が増加することが知られており、全身老化における治療標的の一つとして注目されています。

“老化しにくい臓器”として知られる腸管は、独自のリンパ組織を持ち、CD4, CD8<sup>+</sup> T 細胞以外にも、末梢血ではほとんど存在しない  $\gamma$   $\delta$  T 細胞<sup>※1</sup> や CD8 $\alpha$   $\alpha^+$  T 細胞など、独自の分画を多く含み、非常にユニークで高度に発達した免疫系を有することが知られています。腸管免疫系は腸内細菌など莫大な外来抗原の最前線で、炎症と寛容のバランスを絶妙に保ち、健全な状態を維持しています。しかしながら、全身免疫系における老化は精力的に研究されているのに対して、腸管免疫系の老化に伴う変化についてはほとんど報告がありません。

そこで今回我々は、腸管免疫系、特に T 細胞の老化に伴う質的、量的、機能的な変化を解析し、全身免疫系における老化 T 細胞との比較を試みることにより、老化現象における腸管免疫系の役割を検討しました。

## 【研究成果の概要】

若年マウス(5-9 週齢)と老齢マウス(18ヶ月齢以降)の脾臓、腸管膜リンパ節、パイエル板、小腸、大腸各臓器における免疫細胞を採取し、フローサイトメトリーを用いて、T 細胞分画の割合と、老化 T 細胞に特徴的とされる表面マーカーの変化を解析したところ、脾臓やリンパ組織、大腸と比較し、小腸の上皮間リンパ球 (Intraepithelial lymphocytes; IEL)<sup>※2</sup>で最も大きな変化がみられました。老齢マウスの小腸において、CD4<sup>+</sup>分画の割合が著明に増加し、老化 T 細胞の特徴である共刺激分子 CD27 及び CD28 の発現低下がみられました。よって、小腸 IEL-CD4 に着目し、脾臓の CD4<sup>+</sup> T 細胞を全身免疫系の比較対象として、若年と老齢マウスよりそれぞれの分画をフローサイトメーターにより分取し、増殖能を比較しました。老化 IEL-CD4 の増殖能は、全身免疫系の老化 T 細胞と比較して著しく低下しました。マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析では、老化 IEL-CD4 において、炎症性サイトカイン<sup>※3</sup>の上昇はみられず、Cd8 $\alpha$  や NK 受容体、グランザイムといった細胞障害性 T 細胞マーカーの上昇がみられました。そこで、腸管腫瘍由来オルガノイド<sup>※4</sup>と IEL 共培養モデルを用いて抗腫瘍免疫能を検討しました。腸管腫瘍を自然発症する APC<sup>min</sup> マウスの腸管腫瘍からオルガノイドを作成し、若年マウスおよび老齢マウスの小腸 IEL-CD4<sup>+</sup> T 細胞、CD3<sup>+</sup> T 細胞と共培養し、細胞障害能を検討したところ、老化 IEL は若年 IEL よりも小腸腫瘍オルガノイドに対する高い細胞障害活性を有していました。さらに老化 T 細胞を細分化し、1 細胞レベルの特性を精密に検討する目的で、若年と老齢マウスの小腸 IEL、脾臓よりそれぞれ CD3 陽性 T 細胞を分取し、シングルセル RNA シークエンス<sup>※5</sup>を行ないました。脾臓の T 細胞において老齢マウスでナイーブ<sup>※6</sup>からメモリー T 細胞<sup>※7</sup>への移行がみられる一方で、小腸では若年マウスでほとんどみられない CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>の T 細胞分画が老齢マウスにおいて出現しました(図1)。

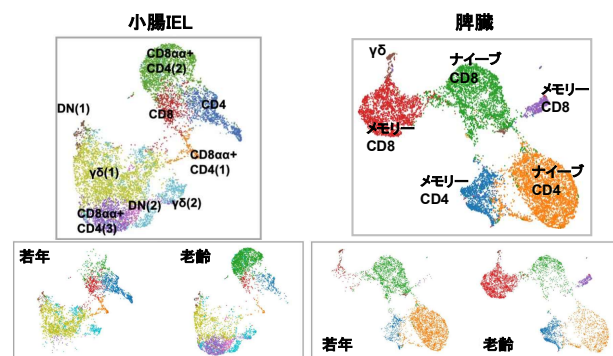


図1 小腸IELと脾臓のシングルセルRNAシーケンス  
1つのドットが1つの細胞に対応する。  
各ドットの位置は各細胞の遺伝子発現プロファイルにより決定され、類似している細胞同士が近くに配置される。  
発現遺伝子の特徴を基に、各色のグループへ分類した。

さらに IEL-CD4 を詳細に解析すると、老化した IEL-CD4 において 2 つのユニークなサブセットが大部分を占めることがわかりました。サブセット 1 は Ifng, Ccl4 といったサイトカイン/ケモカインの分泌が見られ、パスウェイ解析でも TCR シグナル、NF $\kappa$ B シグナルなどが抽出されるなど炎症の要素が強い一方で、ctla4 などの抑制性分子の発現も見られました。サブセット 2 は Ifng の発現はなく、Lag3 や Tigit といった抑制性分子、NK receptor や Cd200r、Fcer1g などの  $\gamma$   $\delta$  T 細胞マーカーを高発現し、抑制的な要素が強い一方で Ccl5 の発現は高く、また老化腸管 CD4<sup>+</sup> T 細胞の特性であるグランザイム、Cd8a の発現は両者に共通していました(図2、3)。これらの2分画はクラスタリングでは相反する位置関係にあり、実際に TCR レパトワ<sup>※8</sup>も異なっていました。

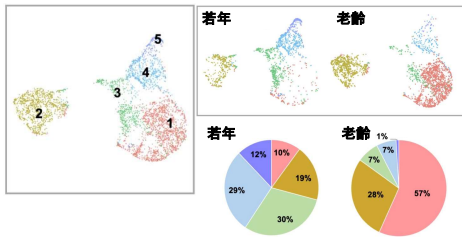


図2 小腸IELのCD4<sup>+</sup>を抽出し、遺伝子発現が類似するグループへ再分類した

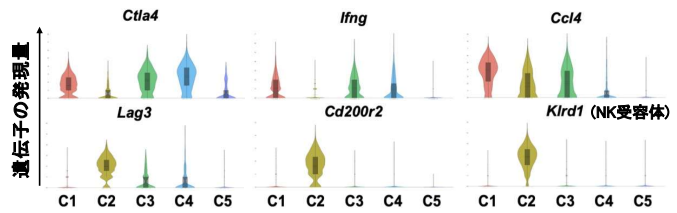


図3 小腸IELのCD4<sup>+</sup>の各グループにおける、遺伝子の発現

## 【研究成果の意義】

本研究成果により、老化したマウス小腸において性質の異なる二つの IEL-CD4<sup>+</sup> T 細胞サブセットが増加することが明らかになりました。これは、全身免疫系の老化 T 細胞における変化より大きく、老化が目立たない腸管の老化制御において重要な役割を担っている可能性が示唆されました。

全身免疫系では細胞障害活性を持つ CD4<sup>+</sup> T 細胞が近年注目されています。これらの細胞は長寿者の末梢血に増加しており、腫瘍免疫において重要な役割を持つこと示唆されています。サブセット 2 はグランザイムや NK receptor や CD8 $\alpha$  など  $\gamma$   $\delta$  T 細胞に類似した表面マーカーを発現することから、抗腫瘍免疫のみではなく、ストレス細胞の排除、バリア機能の維持など上皮細胞の品質管理を行っている可能性があります。

これらの IEL-CD4<sup>+</sup> T 細胞サブセットを介した腸管免疫の老化機構解明により、腸管自体の老化制御や長寿に寄与する治療へ繋がる可能性が期待されます。

## 【用語解説】

※<sup>1</sup>  $\gamma$   $\delta$  T 細胞…  $\gamma$   $\delta$  鎖の T 細胞受容体 (TCR) を発現する T 細胞。末梢血に少なく、腸管上皮に多く存在する。細胞に傷害をきたす様々なストレスを感知し、免疫応答を誘導する。

※<sup>2</sup> 腸管上皮間リンパ球… 単層の腸管上皮細胞層にはまり込む様に存在し、CD4<sup>+</sup> T 細胞や CD8<sup>+</sup> T 細胞の他、 $\gamma$   $\delta$  T 細胞といった末梢血では稀な特殊な分画を多く含むユニークな細胞集団。粘膜の恒常性維持において重要な役割を担っている。

※<sup>3</sup> サイトカイン… 主に免疫細胞が分泌する細胞間の情報伝達を行うタンパク質。

※<sup>4</sup> オルガノイド… 生体外で作成されたミニ臓器。

※<sup>5</sup> シングルセル RNA シークエンス… 1 細胞ごとに転写産物 (RNA) の種類と量を網羅的に検出する解析を行い、細胞の特性を明らかにする解析手法。集団の平均値を計測する通常の解析では検出が困難な希少細胞における発現変化の検出や、各細胞に特徴的な遺伝子発現プロファイルを元に亜集団を分類することが可能。

※<sup>6</sup> ナイブ T 細胞… 産生後、抗原に出会っていない T 細胞。

※<sup>7</sup> メモリー T 細胞… 抗原と出会い活性化した後、一定の割合で生体内へ残り長期間維持される T 細胞。同じ抗原と 2 回目に遭遇した際、より早く強い機能を発揮することができる。

※<sup>8</sup> TCR レパトワ… T 細胞受容体 (TCR) は、複数の遺伝子断片から構成されており、多様な抗原と反応できるような遺伝子再編成により 10 の 18 乗もの種類が存在する。このような個々の異なる特異性をもった TCR の多様性をレパトワという。

## 【論文情報】

掲載誌:Frontiers in Immunology

論文タイトル:

Single cell analysis revealed that two distinct, unique CD4+ T cell subsets were increased in the small intestinal intraepithelial lymphocytes of aged mice

## 【研究者プロフィール】

岡本 隆一 (オカモト リュウイチ) Okamoto Ryuichi

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

消化器病態学分野 教授

・研究領域

消化器内科学、再生医学



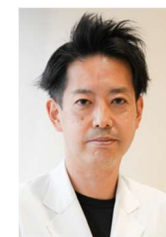
根本 泰宏 (ネモト ヤスヒロ) Nemoto Yasuhiro

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

消化器病態学分野 准教授

・研究領域

消化器内科学、免疫学



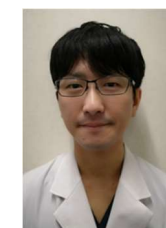
米本 有輝 (ヨネモト ユウキ) Yonemoto Yuki

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

消化器病態学分野 大学院生

・研究領域

消化器内科学、免疫学



## 【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科  
消化器病態学分野 根本 泰宏(ネモト ヤスヒロ)

E-mail: ynemoto.gast@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp