

平成 28 年 5 月 17 日

平成 27 年度共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：名古屋市立大学大学院医学研究科

職名：教授

氏名：山崎 小百合

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：抗原特異的制御性 T 細胞の iPS の作成
2. 再生医科学研究所共同研究者： 河本 宏 教授
3. 研究期間：平成 27 年 4 月 1 日～平成 28 年 3 月 31 日
4. 研究経過及び研究成果：

現在の免疫抑制療法は全身の免疫を抑制してしまうために重篤な感染症や発ガンのリスクがある。生体にとって好ましくない免疫反応を特異的に抑制する為に、移植片拒絶、自己免疫疾患、アレルギーなどに対する抗原特異的な免疫抑制療法が必要である。抗原特異的な制御性 T 細胞による抑制がその解決策の一つと考え、将来、iPS 化する事で数的な問題にも対応し、将来の抗原特異的な治療法に応用できるのでは、と考え、河本教授と共同研究を開始した。

制御性 T 細胞は、マウスやヒトの末梢の CD4⁺T リンパ球の 5-10% を占める亜集団で、自己免疫、腫瘍免疫、アレルギー、移植免疫、慢性炎症など様々な免疫反応を抑制する。申請者は、坂口志文教授の下、1999-2002 年に制御性 T 細胞が腫瘍免疫抑制に関わる事 (Shimizu, Yamazaki, Sakaguchi. *J Immunol* 1999; Ko, Yamazaki et al. *J Exp Med* 2005)、GITR が制御性 T 細胞の機能を制御する事 (Yamazaki et al. *Nat Immunol* 2002) を見出した。さらに、樹状細胞を発見した Rockefeller 大 Ralph Steinman 教授と共に、樹状細胞による抗原提示で抗原特異的な制御性 T 細胞を増殖誘導できる事を示してきた (Yamazaki et al. *J Exp*

Med 2003; Yamazaki et al. *PNAS* 2006; Yamazaki et al. *Blood** 2007 *Corresponding author 引用回数 129; Yamazaki et al. *J Immunol** 2008 *Corresponding author)。

これらの成果はマウスを主に使っていたが、ヒトでも同様に樹状細胞で抗原特異的制御性 T 細胞の誘導ができる可能性があり、今回、この実験系の確立を行った。最初に健康人の PBMC の CD14+単球由来樹状細胞を試験管内で GM-CSF, IL-4 にて誘導する系をセットアップした。CD14+単球由来樹状細胞に LPS やサイトカインカクテルを加えることで immature な状態から mature な状態に誘導できる事も確認した。末梢血液由来の各種樹状細胞サブセットも Flow cytometer にて採取する方法も検討したが、 sorting による樹状細胞へのダメージがより大きく、回収率も少なかったため、CD14+単球由来樹状細胞の使用が適切と判断した。制御性 T 細胞は PBMC より CD4, CD25, CD45RA などをマーカーとして同定することにした。樹状細胞による抗原提示で制御性 T 細胞の増殖を解析するため、細胞の条件、細胞数、日数などを中心に条件検討を Flow cytometer にて行った。制御性 T 細胞の数が少なく、iPS 化をする場合は、制御性 T 細胞のより多くの増殖が必要であるため、実験系のセットアップに時間を要しつつ現在も実験を続けている。

樹状細胞による抗原提示を駆使して、抗原特異的な制御性 T 細胞を増殖誘導し、病態を特異的に抑制する事で将来、重篤感染症と発癌のリスクを軽減できる。さらに将来的に iPS 化をする事で、数的な問題点の克服ができれば、臨床応用が平易になるのでは、と考える。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト (掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可)、学会発表等 (論文発表)

Gunawan M, Venkatesan N, Loh JT, Wong JF, Berger H, Neo WH, Li LY, Win MK, Yau YH, Guo T, See PC, **Yamazaki S**, Chin KC, Gingras AR, Shochat SG, Ng LG, Sze SK, Ginhoux F, Su IH.

Histone methyltransferase Ezh2 controls cell adhesion and migration through direct methylation of Talin

Nat Immunol 2015 ;16:505-16. Doi:10.1038/nl.3125.

Kubo R, Muramatsu S, Sagawa Y, Saito C, Kasuya S, Nishioka A, Nishida E, **Yamazaki S**, Morita A

Bath-PUVA therapy improves impaired resting regulatory T cells and increases activated regulatory T cells in psoriasis (Submitted)

(学会発表)

LC2015,14th International Workshop on Langerhans Cells

Ultraviolet B-expanded Thymus-derived Foxp3⁺ Regulatory T Cells Interact with Dendritic Cells in The Skin

Sayuri Yamazaki¹, Akiko Nishioka², Saori Kasuya², Naganari Ohkura^{3,4}, Hiroaki Hemmi^{5,6}, Tsuneyasu Kaisho^{5,6}, Osamu Taguchi², Shimon Sakaguchi³, Akimichi Morita²

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²Department of Geriatric and Environmental Dermatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

LC2015,14th International Workshop on Langerhans Cells

Analysis of C5a receptor expression on the various subsets of dendritic cells

Kohei Tsujimura¹, Rieko Ohta², Masaki Imai¹, **Sayuri Yamazaki¹**

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

²Division of Immunology, Aichi Cancer Center Research Institute

LC2015,14th International Workshop on Langerhans Cells

Phenotype analysis of Foxp3⁺CD4⁺ regulatory T cells and dendritic cells in the skin after

Ultraviolet B exposure

Mizuyu Odanaka¹, **Sayuri Yamazaki¹**, Akiko Nishioka², Saori Kasuya², Shoryu

Takayama¹, Masaki Imai¹, Akimichi Morita²

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

²Department of Geriatric and Environmental Dermatology, Nagoya City University Graduate

School of Medical Sciences

第44回日本免疫学会学術集会

Foxp3⁺CD4⁺ Regulatory T Cells with Decreased Motility Accumulate in Aged Lymphoid

Tissue

Sayuri Yamazaki¹, Masaki Imai¹, Akiko Nishioka², Saori Kasuya², Mizuyu Odanaka¹, Osamu

Taguchi², Akimichi Morita²

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²Department of Geriatric and Environmental Dermatology, Nagoya City University Graduate

School of Medical Sciences

第44回日本免疫学会学術集会

Phenotype analysis of Foxp3⁺CD4⁺ regulatory T cells in the skin after Ultraviolet B exposure

Mizuyu ODANAKA¹, **Sayuri YAMAZAKI¹**, Akiko NISHIOKA², Saori KASUYA²,

Shoryu TAKAYAMA¹, Masaki IMAI¹, Osamu TAGUCHI², Akimichi MORITA²

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²Department of Geriatric and Environmental Dermatology, Nagoya City University Graduate

School of Medical Sciences

第44回日本免疫学会学術集会

Differential roles of complement anaphylatoxin C5a and C5adesArg

TAKAYAMA Shoryu¹, ODANAKA Mizuyu¹, Ohta Rieko^{1,2}, IMAI Masaki¹, **YAMAZAKI**

Sayuri¹

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²Division of Immunology, Aichi Cancer Center Research Institute

第40回研究皮膚科学会

Ultraviolet B (UVB) Exposure Expands Thymus-derived Foxp3⁺CD4⁺Regulatory T Cells with

Distinctive Phenotype in The Skin

Sayuri Yamazaki¹, Mizuyu Odanaka¹, Akiko Nishioka², Saori Kasuya², Shoryu Takayama¹,

Masaki Imai¹, Osamu Taguchi², Akimichi Morita²

¹Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,

²Department of Geriatric and Environmental Dermatology, Nagoya City University Graduate

School of Medical Sciences

第 52 回補体シンポジウム

C5a 第2レセプター-C5L2 の発現解析

辻村幸平¹、太田里永子²、今井優樹¹、**山崎小百合¹**

名古屋市立大学・医・免疫¹ 愛知がんセンター研究所・腫瘍免疫部²