

令和 4 年 11 月 15 日

報道関係者各位

学校法人獨協学園

獨協医科大学

(学長 吉田謙一郎)

MAIT 細胞は自然リンパ球活性化を抑制し、喘息の炎症を軽減 (新たな喘息治療に道筋)

ポイント

- ・ MAIT (マイト) 細胞はヒトに最も多く存在する自然免疫型 T 細胞
- ・ MAIT 細胞と 2 型自然リンパ球で再構築した気道炎症モデルで MAIT 細胞は炎症を軽減

要旨

2 型自然リンパ球は喘息・アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患で炎症の誘導と増悪に重要な役割を果たすことから、この細胞の増殖・機能を抑える新規治療法の開発が望まれています。本学呼吸器・アレルギー内科の清水泰生教授と先端医科学研究センター・生体防御研究部門の杉本智恵准教授・若尾宏教授らの研究グループは自然免疫型 T 細胞である MAIT 細胞が喘息の気道炎症を抑制することを発見しました。研究グループが独自に開発した MAIT 細胞が豊富なマウスを使って、気道炎症を発症させたところ、炎症の軽減が観察されました。この軽減は MAIT 細胞が喘息の誘導・増悪に重要な役割を果たす 2 型自然リンパ球の増殖・機能を抑制することに由来します。2 型自然リンパ球はアレルギー性疾患以外にも、自己免疫疾患、生活習慣病等においても病態悪化に寄与することから、その増殖・機能を抑制する MAIT 細胞は重要な創薬標的となり、今後、臨床応用への展開が期待されます。

本研究の成果は Frontiers in Immunology (免疫学・生命医学分野の専門誌) に掲載されます。

論文発表の概要

論文タイトル: Mucosal-associated invariant T cells repress group 2 innate lymphoid cells in *Alternaria alternata*-induced model of allergic airway inflammation

著者: 清水泰生¹、堀金一小中居有紀子¹、石井 芳井²、杉本智恵²、若尾宏²

所属: ¹ 獨協医大・呼吸器・アレルギー内科 ² 獨協医大・先端医科学研究センター・生体防御研究部門

公表雑誌: Frontiers in Immunology

雑誌 URL: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology>

論文公開日: 2022 年 11 月 15 日 (8 am UK / 5 pm JST オープンアクセス)

背景

本研究グループが注目する MAIT (マイト) 細胞は Mucosal Associated Invariant T cell (粘膜

関連インバリアント T 細胞) の略で、その名の通り腸管粘膜固有層、肺などの粘膜組織をはじめ、末梢血・肺・肝臓などにも多く存在します。

自然免疫型 T 細胞は自然免疫*と獲得免疫*の性質をあわせ持つ免疫細胞で、様々な機能が想定されていますが、未だその全貌は明らかにされていません。

自然免疫型 T 細胞の中でも MAIT 細胞はヒトで最も多い細胞集団で、ヒト末梢血・肝臓の T 細胞のうち 1-10、20-50% を占め、疾患との関連が注目されています。しかし、MAIT 細胞は研究用動物としてしばしば用いられるマウスにはごく微量にしか存在しないため、疾患における機能詳細についてはこれまで不明でした。

一方、喘息の発症においては 2 型自然リンパ球*の増殖と機能（特に炎症性物質の産生能）が重要であることが知られております。

喘息患者において MAIT 細胞量や性質の変化が見られるという報告が多数ありますが、MAIT 細胞がどのように喘息の発症と病態に関与するのかはわかっていませんでした。

本研究グループは先に発表したマウス MAIT 細胞から誘導した iPS 細胞 (Sugimoto et al. *eLife* 2022 年、3 月本学からプレスリリースを行いました) を用いてトランスジェニックマウスでもノックアウトマウスでもない、MAIT 細胞が豊富な新規マウスを世界に先駆けて樹立しました。

今回発表する論文では、野生型マウスと MAIT 細胞が豊富なマウスを用いて喘息モデルである気道炎症を誘導して MAIT 細胞の効果を調べました。MAIT 細胞と 2 型自然リンパ球を培養皿中で培養して、MAIT 細胞が 2 型自然リンパ球の増殖と機能を抑制することを示しました。さらにこれら細胞を免疫細胞がないマウスに移入して気道炎症を誘導することで、MAIT 細胞が持つ 2 型自然リンパ球に対する増殖・機能抑制能を個体中で明らかにしました（概略図をご参照ください）。

研究手法と成果

1. MAIT 細胞豊富なマウス (V α 19 マウス) の樹立

ヒトと違ってマウスには MAIT 細胞がごくわずかにしか存在しません。MAIT 細胞が豊富なマウスを作製するために、マウス MAIT 細胞から iPS 細胞 (MAIT-iPS 細胞) を樹立し、ここから MAIT 細胞が豊富なマウスを作製しました。このマウスの詳細につきましては、現在、別の雑誌に論文投稿中ですので、ここでは省略いたします。

MAIT 細胞がどれだけ豊富にいるのか、肺のデータを示します。野生型マウス肺では全 T 細胞の 3 % 程度が MAIT 細胞でしたが、この MAIT 細胞豊富なマウス（以下、V α 19 マウスと呼びます）ではその割合は 40% 近くまで上昇していました（図 1）。

V α 19 マウス樹立によりヒトと同程度、あるいはヒト以上の頻度で発現するマウス実験系が確立できました。

2. V α 19 マウスを用いた気道炎症誘導

マウスにカビの一種であるアルテルナリア（台所や浴室などに生息するかびでアレルギー性疾患の原因菌の一つです）の抽出物を経鼻経路で投与し、気道炎症を起こしました。

MAIT 細胞の増加が気道炎症に及ぼす影響を評価するため、喘息の指標となる気管支肺胞洗浄液*中の浸潤細胞や炎症性物質（サイトカイン）を定量しました。その結果、野生型マウスと比較した場合、好酸球や 2 型自然リンパ球 (ILC2) 量が V α 19 マウスで減少していました。また、V α 19 マウスでは 2 型自然リンパ球の増殖を促すサイトカインに加えて、炎症悪化に働く物質の減少も観察できました。また、気道炎症の悪化の程度を示す粘液染色を行なったところ、野生型マウスに比較して V α 19 マウスでは染色される領域面積の減少、すなわち炎症の軽減が見られました

(図 2)。

以上から MAIT 細胞豊富な V α 19 マウスではアルテルナリア刺激による気道炎症が軽減されていることが明らかになりました。

3. MAIT 細胞は 2 型自然リンパ球の増殖・サイトカイン産生を抑制する (培養皿での実験)

2 型自然リンパ球はアレルギー性喘息を悪化させます。V α 19 マウス気管支肺胞洗浄液を用いた結果から、MAIT 細胞が 2 型自然リンパ球の増殖とサイトカイン産生を抑制している可能性が考えられました。

これを検証するため、MAIT 細胞および 2 型自然リンパ球を用いて実験を行いました。MAIT 細胞の活性化は T 細胞受容体(TCR)依存的になされる場合と、TCR 非依存的になされる場合があります。ここではどのような状態の MAIT 細胞が 2 型自然リンパ球の活性制御に重要なのかを明らかにする目的で、刺激していない MAIT 細胞、TCR 刺激を入れた MAIT 細胞、TCR 非依存的刺激を行なった MAIT 細胞と 2 型自然リンパ球とをそれぞれ混合培養して、2 型自然リンパ球の増殖と産生されるサイトカインを測定しました。その結果、TCR 非依存的刺激 MAIT 細胞が IL-33 刺激 (2 型自然リンパ球を増殖させるサイトカイン、アラミンとも呼ばれる) による 2 型自然リンパ球の増殖、2 型自然リンパ球から産生され、気道炎症を悪化させるサイトカインを抑制することを明らかにしました。また、TCR 非依存的刺激を行なった MAIT 細胞からは IFN- γ が産生され、IFN- γ が 2 型自然リンパ球の増殖・サイトカイン産生抑制を行う物質であることを突き止めました (図 3)。

以上から、TCR 非依的に刺激された MAIT 細胞は IFN- γ を介して 2 型自然リンパ球の増殖・サイトカイン産生を抑制していることが示されました。

4. 免疫細胞のいないマウスを用いた MAIT 細胞の 2 型自然リンパ球制御を介した気道炎症軽減

培養皿上では MAIT 細胞の 2 型自然リンパ球に対する抑制作用が観察できました。この結果をさらに強固なものにするため、免疫細胞を欠損する重度免疫不全マウスに MAIT 細胞や 2 型自然リンパ球を移入することで、気道炎症を誘導しました。重度免疫不全マウスは通常、気道炎症を起こしません。しかし、2 型自然リンパ球を移入して刺激を行うと (この場合、IL-33 というアラミンで刺激) 炎症を起こすことができます。この時、MAIT 細胞有無にて炎症の程度を比較しました。その結果、MAIT 細胞存在下では気管支肺胞洗浄液中の炎症性サイトカインの低下が見られました。また、肺に存在する 2 型自然リンパ球数も MAIT 細胞移入によって減少しました。さらに肺組織の粘液染色を行なったところ、2 型自然リンパ球単独移入の場合に比して、MAIT 細胞を同時に移入した場合は染色面積の減少が見られました (図 4)。

以上から、重度免疫不全マウスにて 2 型自然リンパ球移入で誘導される気道炎症は MAIT 細胞の移入によって抑制できることが明らかになりました。

今後への期待

MAIT 細胞はヒトで最も多い T 細胞であり、肺にも多く存在しています。今回の結果から、喘息に伴う気道炎症では MAIT 細胞が炎症増悪に働く 2 型自然リンパ球の増殖・サイトカイン産生を抑制することから、MAIT 細胞—2 型自然リンパ球の相互作用を制御する創薬が期待できます。

重症喘息に対しては症状悪化に関わる IgE、IL-5、IL-5 受容体、IL-4 受容体/IL-13 受容体、TSLP に対する中和抗体を含む生物製剤が開発され、現在臨床で使われ始めていますが、将来的には MAIT 細胞の 2 型自然リンパ球に対する制御能を調整することで、治療薬・方法の開発が可能となります。

2 型自然リンパ球は喘息に限らず、特発性間質性肺炎、クローン病など、現在特効薬のない疾患でも重要な機能を担うことから、MAIT 細胞を標的とすることや、ヒト iPS 細胞から作製した MAIT 細胞を用いる再生医療はこれら疾患に対する新規治療に道を拓くものと期待されます。

お問い合わせ先：

（このプレスリリースに関するお問い合わせ）

獨協医科大学・企画広報部 電話：0282-87-2107

（研究内容に関するお問い合わせ）

研究結果の解釈・臨床応用について

獨協医科大学・呼吸器・アレルギー内科 電話：0282-86-1111（内線 2705）

教授 清水 泰生（E-mail: yasuo-s@dokkyomed.ac.jp）

研究手法・背景・意義について

同 先端医科学研究センター生体防御研究部門 電話：0282-86-1111（内線 2177）

教授 若尾 宏（E-mail: hwakao@dokkyomed.ac.jp）

本研究の概略図の説明

MAIT 細胞が少ない（通常の）場合は、上皮細胞は接着したカビの刺激を受けて IL-33 などアラミンと呼ばれる物質を細胞内に放出します。IL-33 は 2 型自然リンパ球の増殖と IL-5、IL-13 等のサイトカイン産生を促進します。その結果、炎症の原因となる好酸球・粘液産生の増加がもたらされ、炎症が憎悪します（左図）。一方で MAIT 細胞が多いときにはこの細胞から産生される IFN- γ が 2 型自然リンパ球に作用してこの細胞の増殖や IL-5、IL-13 の産生が抑制され、結果として炎症が軽減すると考えられます。

各図の説明

図 1 野生型マウスと V α 19 マウス肺における MAIT 細胞存在割合

フローサイトメータによって肺の単核球中の MAIT 細胞存在割合を測定した。縦軸は MAIT 細胞を特異的に染色する試薬の、横軸は広く T 細胞を認識する抗体による蛍光強度を表す。数字は T 細胞に対する MAIT 細胞の割合（%）を示す。

図 2 アルテルナリア投与による野生型マウスと V α 19 マウスでの気道炎症

A 気管支肺胞洗浄液中の好酸球（左）と 2 型自然リンパ球（ILC2）の数を示した。WT PBS：野生型マウスに生理食塩水を投与した場合、V α 19 PBS: V α 19 マウスに生理食塩水を投与した場合、WT AA: 野生型マウスにアルテルナリア抽出物を投与した場合、V α 19 AA: V α 19 マウスにアルテルナリア抽出物を投与した場合。

B 気管支肺胞洗浄液中の IL-5, IL-13, IL-6, IL-12p40 の量（縦軸）、横軸はアルテルナリア抽出物投与後の日数

C アルテルナリア抽出物を投与した野生型マウス(WT AA)および V α 19 マウス(V α 19 AA)肺の組織染色写真。紫で染まった部分は炎症に伴い産生される粘液の主成分であるムチンである。右のグラフは野生型マウスと V α 19 マウスで染色される部分の面積比を示したものの。後者では野生型の 1/4 程度になっており、炎症が軽減している。

図 3 T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞による 2 型自然リンパ球の増殖阻害

A IL-33 刺激した 2 型自然リンパ球(ILC2)の増殖は T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞(cyt-MAIT)によって阻害されるが、刺激を受けていない MAIT 細胞(MAIT)や T 細胞受容

体依存的に刺激された MAIT 細胞(5-OR-MAIT)によっては抑制されない。縦軸は 2 型自然リンパ球(ILC2)の数。

B T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞は IFN- γ を産生

T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞(cyt-MAIT)を単独、あるいは IL-33 刺激した 2 型自然リンパ球(ILC2)と培養すると IFN- γ が産生されるが、この産生は ILC2 に依存しない。図には共培養後 2 日目と 5 日目のデータが示されている(day 2, day 5)。

C T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞の 2 型自然リンパ球(ILC2)に対する増殖抑制活性は IFN- γ に依存

T 細胞受容体非依存的に刺激された MAIT 細胞(cyt-MAIT)と IL-33 刺激した 2 型自然リンパ球(ILC2)の共培養に IFN- γ 中和抗体を入れると抑制されていた ILC2 の増殖能が回復する。対照となる抗体ではなんの影響もなかったが、IFN- γ 中和抗体をこの培養に加えると、ILC2 は cyt-MAIT による増殖抑制能を抑えて、再び増殖するようになった。

図 4 重度免疫不全マウスを用いた MAIT 細胞による気道炎症抑制

A 免疫細胞を欠損する重度免疫不全マウスに 2 型自然リンパ球(ILC2)単独、あるいは ILC2 と MAIT 細胞を移入してアラミン IL-33 で刺激して気道炎症を起こした。炎症発症後に気管支肺泡洗浄液中の IL-5 と IL-13 の濃度を測定した。MAIT 細胞を同時移入した群で、ILC2 単独移入の場合に比して有意な IL-5、IL-13 の減少が見られる。これらは気道炎症の憎悪に働くので、産生減少は炎症の軽減をもたらすと考えられる。

B 肺における 2 型自然リンパ球(ILC2)数

A と同様に気道炎症を誘導して肺に存在する 2 型自然リンパ球(ILC2)の数を測定した。ILC2 は増殖して IL-5 や IL-13 を産生しながら気道炎症を悪化させる。しかし、MAIT 細胞を同時移入した群では ILC2 の有意な増殖抑制が観察された。これは移入した MAIT 細胞が ILC2 の増殖を抑制したことを示唆する。

C 気道炎症を起こした重度免疫不全マウスの組織染色

A と同様に気道炎症を誘導して、肺の組織染色を行なった。紫で染まった部分は炎症に伴い産生される粘液の主成分であるムチンである。ILC2 と MAIT 細胞を同時移入したマウスの肺(ILC2+MAIT)では ILC2 単独移入した場合と比して染色される面積が 1/3 程度に減少した(右図)。これは、MAIT 細胞によって ILC2 による炎症が軽減されたことを示す。

用語説明

自然リンパ球 自然免疫に関わる免疫細胞で、適応免疫を担う B、T 細胞と異なり、抗原受容体を持ちません。自然リンパ球には 1 型、2 型、3 型が存在し、2 型自然リンパ球がアレルギー疾患で重要な機能を果たすと考えられています。

自然免疫 ヒトに元来備わっている仕組みで、免疫細胞が自己と非自己を識別して、非自己である病原体や異常となった自己細胞を攻撃して排除するシステムのことを指します。

適応免疫 生まれながらに備わっている自然免疫とは対照的に出生後、異物や病原体等と接することで獲得される抗原特異的な免疫システムを指し、T, B 細胞によって担われます。

気管支肺泡洗浄液 気管支鏡を介して、気管支内に生理食塩水を注入し、肺泡や末梢気道レベルを洗浄し、その回収液の細胞成分や液性成分を解析する方法のこと。

Th1 抗原からの刺激がない状態(ナイーブ)の CD4 T 細胞を IFN- γ や IL-12 で刺激して得られる細胞群の総称

図1

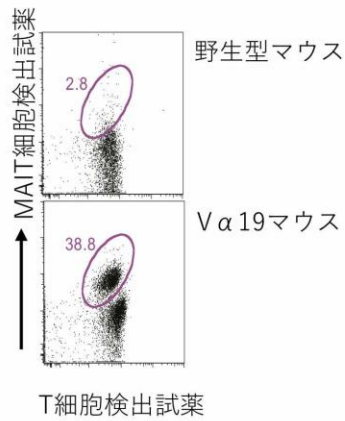


図2

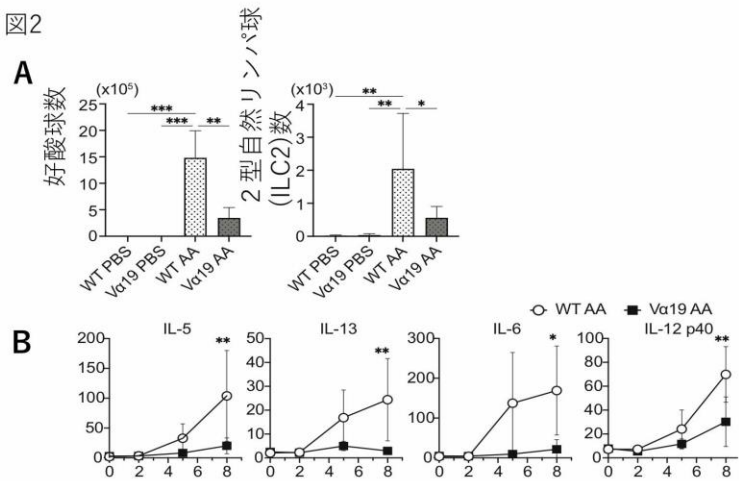


図3

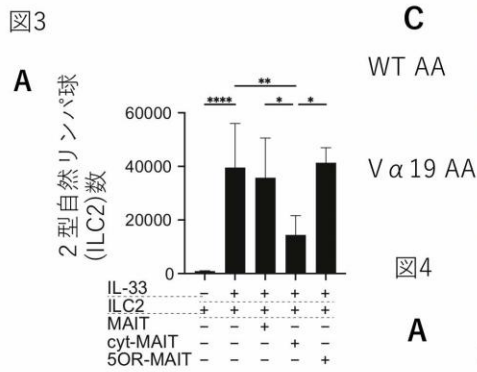
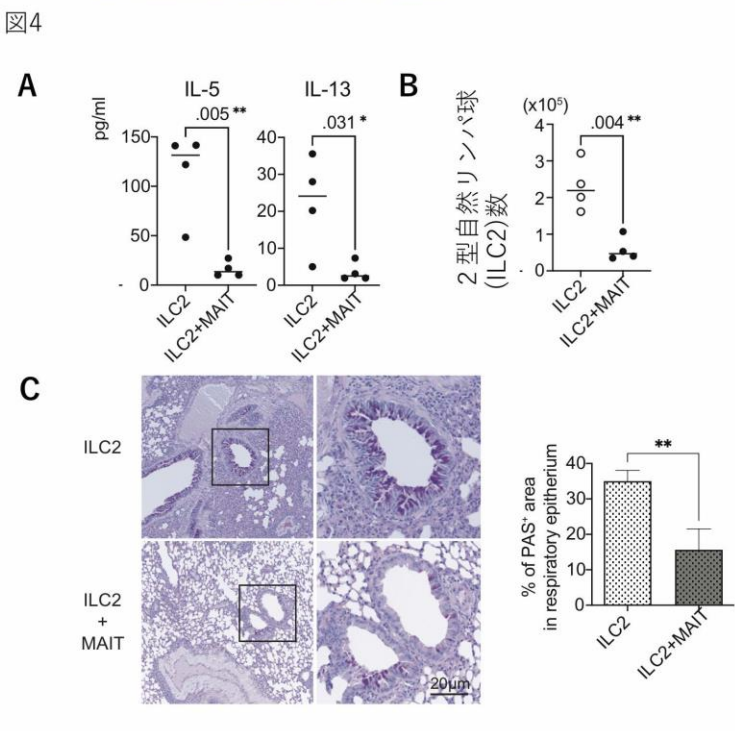


図4



通常の場合

MAIT細胞が多い場合

