99 制御性単球の分化および免疫抑制機構の解明

東京薬科大学 生命科学部 免疫制御学研究室　池田　直輝

【背景・目的】我々は、マウスにおける新規単球亜集団「制御性単球（$Ym1^{+}Ly6C^{+}$）」を同定し、これが DSS 誘導腸炎の炎症収束や組織修復に寄与することを報告した（Ikeda et al. 2018, Sci. Immunol.）。この制御性単球は、炎症期ではなく回復期に骨髄で誘導され、従来型単球とは異なる発現プロファイルを示す。我々は制御生単球が、顆粒球単球前駆細胞（GMP）から、好中球前駆細胞（proNeu1）、新規前駆細胞（GMP-MoP）を経由して分化することを明らかにし、加えて、この経路は G-CSF により誘導されることを明らかにした（Ikeda et al. 2023, Cell Rep.）。さらにヒトにおいても、$CXCR1^{+}CD14^{+}$単球を同定し、T 細胞抑制機能や G-CSF 誘導性から、マウス制御性単球との相同性を示した（Ikeda et al. 2023, Cell Rep.）。本研究では、上記の研究を発展させることで、「制御性単球の分化および免疫抑制機構の解明」を目的とし、以下の 3 つの課題に取り組んだ。

【方法・結果】

1. 制御性単球の分化機構の解析

制御性単球が定常時には存在せず、DSS 腸炎修復期に誘導されることから、組織傷害により生じた何らかの因子により誘導されることが示唆される。我々は DSS 腸炎により誘導されるサイトカインを標的とした *in vivo* スクリーニングアッセイを実施した。その結果、すでに分化誘導因子として同定した G-CSF の他に、新たに 4 つの分化誘導因子を同定した。加えて我々は、分化誘導因子解析のために、これまでに、IRF8・C/EBPβ・GFI1 などの転写因子が制御性単球の分化に関与することを報告した（Ikeda et al. 2023, Cell Rep.）。本研究では、proNeu1 から GMP-MoP への分化において発現上昇する候補転写因子を RNA-seq で抽出した。GMP における候補因子発現を、レンチウイルスを用いて発現制御すると、転写因子 A、B、C を過剰発現させた際に、制御性単球分化が亢進することを見出した。さらに、転写因子 A については遺伝子欠損マウスを作製し、LPS 投与による制御性単球誘導モデルを用いて解析すると、制御性単球の割合が減少することを明らかにした。

2. 炎症性腸疾患における制御性単球の機能解析

DSS 誘導腸炎モデルを用い、制御性単球特異的に蛍光標識可能な Ym1-Cre TdTomato マウスにより、大腸組織に浸潤する制御性単球およびそれに由来するマクロファージの機能を解析した。DSS 腸炎誘導 10 日後の大腸制御性単球由来マクロファージのトランスクリプトームの変化を RNA-seq で解析すると、組織修復関連遺伝子が高発現することを見出した。

3. ヒト制御性単球の T 細胞抑制機構の解析

ヒト $CXCR1^{+}CD14^{+}$制御性単球が T 細胞死を誘導する機構として、細胞間接着と過酸化水素依存性の細胞死誘導を見出している。本研究では、ヒト制御性単球に対する抗体を作製し、T 細胞との共培養アッセイに添加することで、T 細胞抑制に関わる制御性単球の細胞表面分子を解析した。その結果、4 クローンで T 細胞死誘導が増加し、1 クローンで T 細胞死が減少した。さらに、T 細胞死を誘導した 4 クローンの標的抗原を質量分析により明らかにし、制御性単球による T 細胞死誘導機能を増強する分子の同定に成功した。