

## 上皮由来サイトカイン TSLP による腸管制御性 T 細胞の成熟機構の解明

田中 繁

千葉大学医学部附属病院 アレルギー・膠原病内科

### 【研究の背景】

制御性 T 細胞(Treg)は免疫恒常性維持に必須の細胞サブセットである。Treg を欠損するヒトやマウスは多彩な自己免疫性疾患を発症することから、自己免疫性疾患の病態に深く関わっていることが示唆される。Treg 移入療法が次世代の自己免疫性疾患治療法として提案されて久しいが、患者自身の末梢血から採取・培養増殖した Treg を移入する治療は臨床的な成果を上げているとは言い難い。これは末梢血中に存在する Treg は各ターゲット臓器の免疫応答を効率的に抑制する機能が乏しい可能性が考えられる。また、近年の研究により、各臓器には特異的な遺伝子発現を持つ Treg が存在し、それらが組織恒常性に重要な働きを持つことが明らかとなってきた。よって、各臓器に分布する Treg の特徴やその機能的成熟の過程を理解することは、Treg 移入療法の改善に繋がり、自己免疫性疾患に対する新しい治療法の基盤を構築することに寄与すると期待される。

### 【目 的】

本研究では炎症時に腸管上皮細胞から産生されるサイトカインが大腸に存在する Treg の機能的成熟に重要な役割を果たしているとの仮説を立て、その分子機構を解明することを目的とした。

### 【方 法】

C57BL/6 マウスにデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)により実験的大腸炎を惹起し、大腸 Treg における上皮由来サイトカイン受容体(IL-17Rb,ST2,TSLPR)の発現を検討した。Treg 特異的 TSLPR 欠損マウス(Foxp3<sup>cre</sup>TSLPR<sup>f/f</sup> マウス)に実験的大腸炎を惹起し、体重変化やエンドポイントでの大腸 CD4 陽性 T 細胞をフローサイトメトリーで解析した。Foxp3<sup>cre</sup>TSLPR<sup>f/f</sup> マウスおよび Foxp3<sup>cre</sup> マウス由来の Naïve CD4 陽性 T 細胞を RAG2 欠損マウスに移入し、大腸炎を惹起した。そして同マウス内の競合的環境における TSLPR 欠損 Treg の機能を解析した。TSLP 刺激による Treg のトランスクリプトーム変化を参考に、TSLP による Treg 細胞内シグナル伝達や、TSLP 刺激による脂肪酸取り込み能を評価した。最後に、脂肪酸あるいはグルコースを減じた細胞培養液を用いることで TSLP 刺激による Treg の栄養素要求の変化を検討した。

### 【結 果】

DSS で実験的大腸炎を惹起したマウスの大腸 Treg では機能的 TSLPR の発現が亢進していた一方、IL-17Rb や ST2 の発現には顕著な差は見られなかった。Foxp3<sup>cre</sup>TSLPR<sup>f/f</sup> マウスはコントロールマウスに比べて DSS 大腸炎が重症化し、大腸 Treg からの免疫抑制性サイトカイン IL-10 の産生が低下していた。RAG2 欠損マウスへの T 細胞移入実験において Foxp3<sup>cre</sup>TSLPR<sup>f/f</sup> マウス由来の Treg の活性化が Foxp3<sup>cre</sup> マウス由来細胞に比べて低下していた。RNA-seq 解析結果より、TSLP で刺激した Treg は既知の JAK-STAT 経路に加え、mTOR シグナルが活性化していることが示唆された。In vitro において Treg を TSLP で短時間刺激したところ、mTOR シグナルの下流分子である Ribosomal-S6 がリン酸化された。また、TSLP 刺激による Treg の活性化は mTOR 阻害薬である Rapamycin によりキャンセルされた。mTOR が細胞内代謝に関連すること

から、TSLP 刺激後の代謝基質の取り込み分子の発現を検討したところ、*Fabp5* や *Cd36* に代表される脂肪酸取り込み分子の発現が上昇しており、In vitro において TSLP 刺激は Treg における脂肪酸の取り込みを増強させた。TSLP で刺激した Treg は脂肪酸を除去した培養液中では活性化せず、むしろ低活性となった一方、グルコースを除去した培養液中では活性化は通常の培養液中と同様に観察された。

### 【考 察】

本研究では、TSLP は大腸 Treg を活性化させ、大腸炎の増悪を抑制していることが明らかとなった。また、その背景にある分子メカニズムに、これまでマウス T 細胞では報告されていなかった、TSLP による mTOR 経路の活性化があることが示唆された。興味深いことに TSLP 刺激が Treg の脂肪酸取り込みを増強させ、低グルコース環境でも細胞を活性化させる事象が見られた。これは主に腸管腔内に由来する脂肪酸を積極的に代謝し、低グルコース環境にも対応できるような細胞内代謝環境へと変化を促す、非常に合目的な応答だと言える。Treg における脂肪酸酸化の重要性が指摘されて久しいが、TSLP が脂肪酸の豊富に存在する腸管組織に Treg の代謝環境を変化、順化させることで、大腸環境の恒常性維持に寄与するという新しい機能が明らかとなった。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

クローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患はその罹患率が近年上昇しており、問題となっている。様々な治療法が開発されているものの、治療に難渋する症例も少なくない。腸管における TSLP 産生を促す方法が確立された場合、Treg の機能を増強することで、炎症性腸疾患を克服することが期待される。

また一方で、気管支喘息の新規治療法として、抗 TSLP 抗体による治療法 (Tezepelumab) が開発されている。本研究の結果からは、炎症性腸疾患と喘息を合併する患者に Tezepelumab を投与する場合の安全性に関して、注意する必要性を喚起することも考慮される。

### 【参考・引用文献】

- Sakaguchi S et al., Regulatory T Cells and Human Disease. *Annu Rev Immunol.* 2020 Apr 26;38:541-566.  
Trzonkowski et al., Hurdles in therapy with regulatory T cells. *Sci Transl Med.* 2015 Sep 9;7(304):304ps18.  
Panduro et al., Tissue Tregs. *Annu Rev Immunol.* 2016 May 20;34:609-33.