



TITLE:

Circulating exosomes suppress the induction of regulatory T cells via let-7i in multiple sclerosis( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kimura, Kimitoshi

---

CITATION:

Kimura, Kimitoshi. Circulating exosomes suppress the induction of regulatory T cells via let-7i in multiple sclerosis. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21020>

RIGHT:

京都大学	博士 ( 医学 )	氏名	木村 公俊
論文題目	<b>Circulating exosomes suppress the induction of regulatory T cells via <i>let-7i</i> in multiple sclerosis</b> (多発性硬化症において、血中のエクソソームが、 <i>let-7i</i> を介して制御性 T 細胞の分化を抑制する)		
(論文内容の要旨) 多発性硬化症 (MS) は、中枢神経系のオリゴデンドロサイトを標的とした自己免疫疾患であり、CD4 <sup>+</sup> T 細胞のうち Th1 細胞と Th17 細胞が主体となって炎症を惹起する。MS では、これらの炎症性 T 細胞を抑制する制御性 T (Treg) 細胞が減少しており、病態に関与すると考えられるが、背景にある機序は明らかではない。エクソソームは径が 150nm 程度までの微小胞で、様々な細胞から放出されることが知られている。エクソソーム内の micro RNA (miRNA) は、エクソソームが取り込まれた細胞において遺伝子発現を調整する。miRNA はもともと T 細胞の分化や機能に関与することが知られているため、MS における血中エクソソームの病態への関与を検討した。 まず、健常人 (HC) と MS 患者の血漿中エクソソーム (HC-exo、MS-exo) に含まれる miRNA について、マイクロアレイ法で解析し、プロファイルが異なることを見出した。PCR (polymerase chain reaction) 法により、4 種の miRNA が MS-exo で増加していることを確認した。次に、ヒト T 細胞を用いた刺激培養系において、HC-exo に比して MS-exo 存在下での Treg (IFN- $\gamma$ IL-17A <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T) 細胞の頻度低下を認めた。一方、Th1 (IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T) 細胞や Th17 (IL-17A <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T) 細胞の頻度には差を認めなかった。MS-exo で増加している miRNA のうち、 <i>let-7i</i> をトランスフェクションすると、同様に Treg 細胞の頻度低下を認めた。また、T 細胞をあらかじめ <i>let-7i</i> inhibitor で処理することによって、MS-exo 存在下での Treg 細胞の頻度低下が消失した。さらに、ナイーブ CD4 <sup>+</sup> T 細胞、メモリーCD4 <sup>+</sup> T 細胞、Treg 細胞それぞれの単離培養系の結果から、MS-exo や <i>let-7i</i> は Treg 細胞の分化を阻害していることを見出した。次に <i>let-7i</i> のターゲット遺伝子として transforming growth factor beta receptor 1 ( <i>TGFBR1</i> ) と insulin like growth factor 1 receptor ( <i>IGF1R</i> ) を同定した。また、これらの遺伝子のノックダウンにより Treg 細胞の分化が阻害されること、ならびに、これらのレセプターのリガンドである TGF $\beta$ と IGF1 が Treg 細胞の分化誘導を促進することを確認した。 最後に、生体内でのエクソソームの役割を確認するために末梢血の解析を行ったところ、MS 患者のナイーブ CD4 <sup>+</sup> T 細胞では TGFBR1 と IGF1R の発現が低下していた。また、これらのレセプターの発現量と末梢血中の Treg 細胞の頻度は正に相関した。さらに、血漿中エクソソーム内の <i>let-7i</i> 量が多い群では、低い群に比して、Treg 細胞の頻度が低値であることを見出した。 以上の結果より、MS 患者では、血中のエクソソームが、内在 <i>let-7i</i> を介してナイーブ CD4 <sup>+</sup> T 細胞の TGFBR1 と IGF1R の発現を低下させ、Treg 細胞の分化を阻害していることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

多発性硬化症 (MS) では、制御性T細胞 (Treg細胞) の減少による炎症性T細胞とのバランスの破綻が一因と考えられているが、その機序は不明であり、詳細な病態の解明が求められている。

本研究では、MS患者の血漿中のエクソソームが、健常人 (HC) のものと比較して、Treg細胞の分化を抑制することを見出した。エクソソームの影響は、Th1細胞やTh17細胞には認められず、少なくとも今回検討した培養系においては、エクソソームはTreg細胞特異的に作用すると考えられた。詳細な検討により、MS患者のエクソソーム中で増加している*let-7i*が、ナイーブCD4<sup>+</sup>T細胞上のtransforming growth factor beta receptor 1 (TGFBR1)とinsulin like growth factor 1 receptor (IGF1R)の発現を抑制することで、Treg細胞の分化を抑制することが示唆された。実際にMS患者では、末梢血中ナイーブCD4<sup>+</sup>T細胞上のTGFBR1とIGF1Rの発現が低下していた。さらに、エクソソーム内の*let-7i*量とTreg細胞頻度をあわせた解析から、in vitroで認められた通り、生体内でもエクソソームが作用していることが示唆された。

以上の研究は、MSにおけるエクソソーム研究分野の開拓に貢献し、エクソソームとTreg細胞を介した詳細なMS病態の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成30年2月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降