

老齡マウスにおける免疫細胞のポピュレーションとサイトカイン産生応答の変化

Changes in immune cell populations and cytokine production in aged mice.

○海野 才斗子、宇賀 恵子、鈴木 敬子、村上 浩司、山崎 将司

Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.,

Purpose 近年、各種の加齢関連疾患の発症や病態に免疫・炎症反応が主要な役割を演じている可能性が示唆されている。しかし、その詳細には未だ不明な点が多い。これまでに我々は、20か月以上飼育したC57BL/6Jマウスが認知機能低下などの老化現象を呈することを報告してきた(Brain Res. 2016 Feb 15;1633:52-61)。本研究では、老化と免疫・炎症反応の関係を明らかにするために、老齡マウスの末梢と中枢での免疫細胞のポピュレーションとサイトカイン産生能について検討した。

Methods C57BL/6J mice (male, 8 weeks old) were purchased from CLEA Japan, Inc. and housed at Axcelead until 9 – 10 weeks old (Young), 60 – 63 weeks old (Middle) and 115 – 118 weeks old (Old). In the young, middle-aged and old-aged mice, we evaluated (1) Grip strength test using a grip strength meter, (2) immunophenotyping of spleen and brain using a flow cytometer, and (3) anti-CD3 antibody (Ab, 0.25 mg/kg, i.p.)-induced cytokine production in plasma and brain, which were measured by V-PLEX Proinflammatory Panel 1 Mouse Kit.

Results

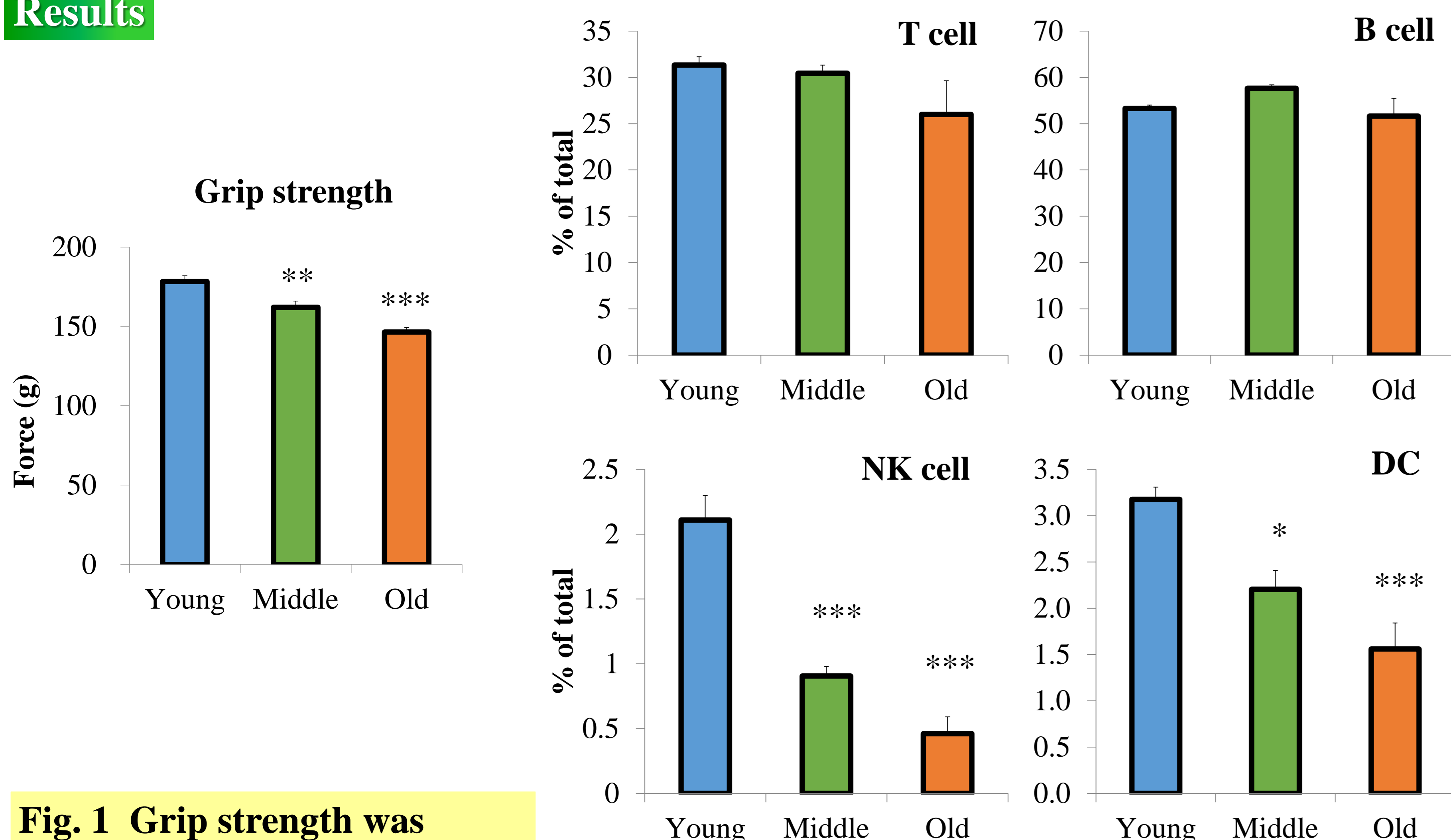


Fig. 1 Grip strength was significantly decreased with aging, indicating that muscle strength declined. Data represent mean+S.E. for 20 animals/group. **P<0.01, ***P<0.001 vs. Young (Dunnett test).

Fig.2A NK cell and DC in spleen were significantly decreased with aging, on the other hand, there was no change in T cell and B cell. Data represent mean+S.E. for 5 animals/group. *P<0.05, ***P<0.001 vs. Young (Dunnett test).

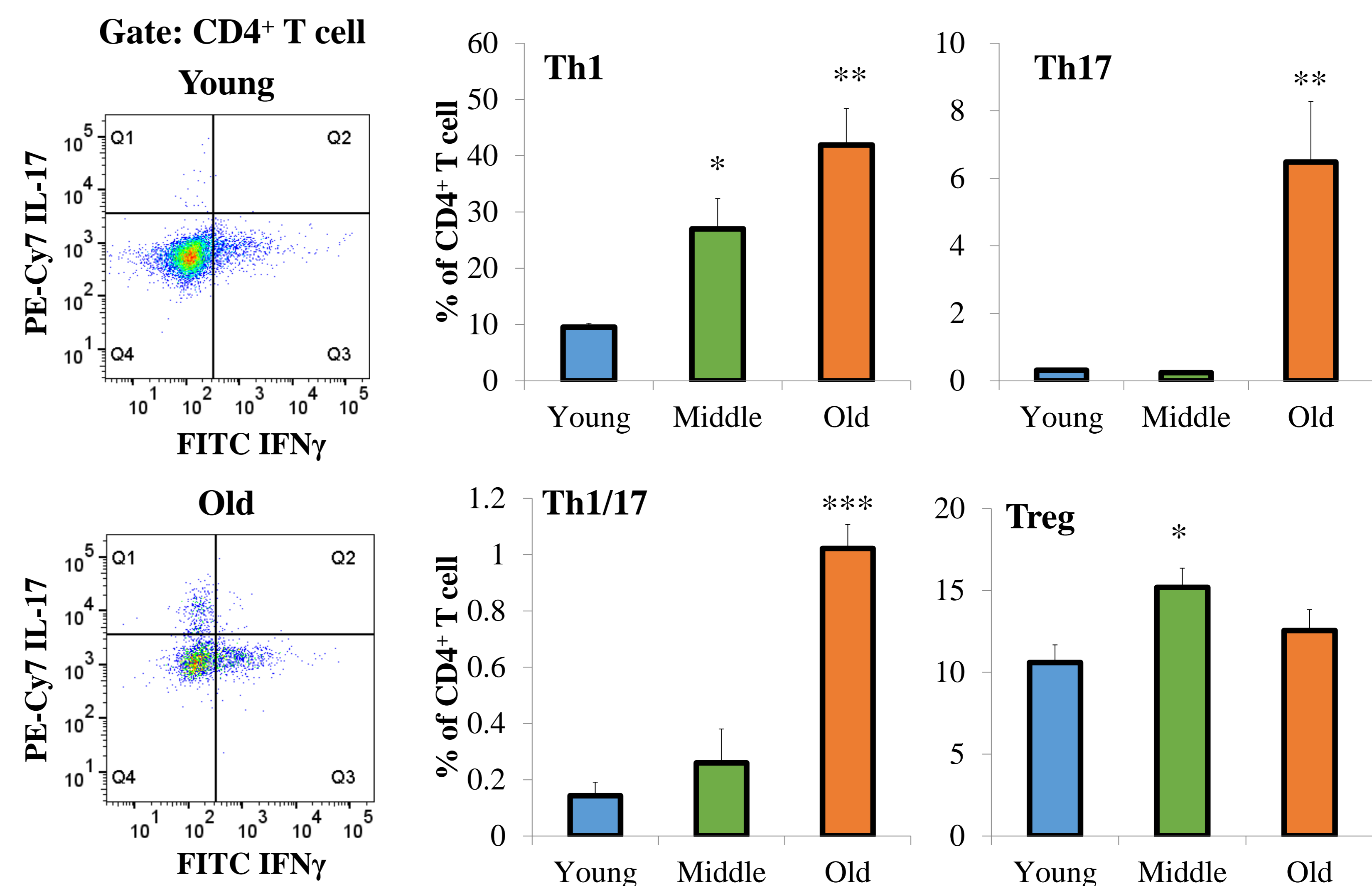


Fig. 2B Th1, Th17 and Th1/17 cells in spleen were significantly increased with aging. Treg was also significantly increased in middle-aged mice. Data represent mean+S.E. for 5 animals/group. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs. Young (Dunnett test).

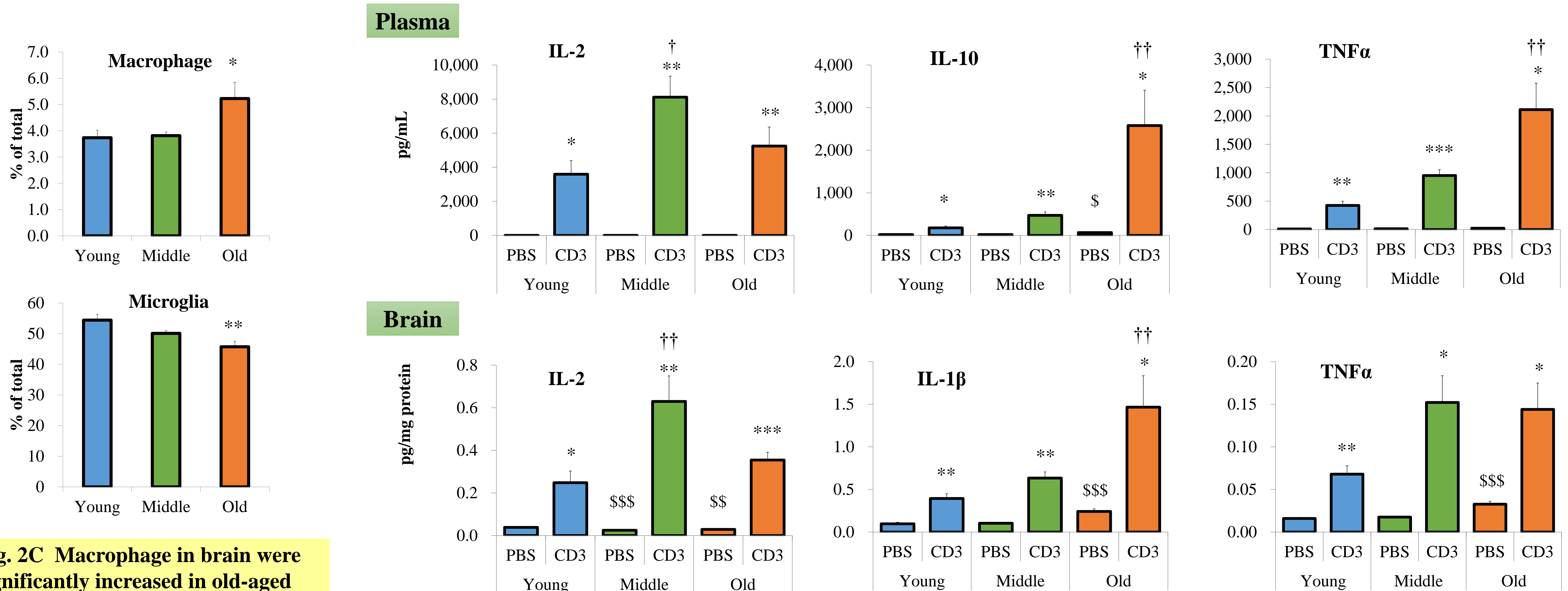


Fig. 2C Macrophage in brain were significantly increased in old-aged mice. On the other hand, microglia was significantly decreased in old-aged mice. Data represent mean+S.E. for 5 animals/group. *P<0.05, **P<0.01 vs. Young (Dunnett test).

Fig. 3 Baseline levels of plasma IL-10 and brain IL-1β/TNFα were significantly higher, but brain IL-2 was lower than those in young mice. In addition, anti-CD3 Ab-induced plasma IL-2, IL-10 and TNFα, and brain IL-2 and IL-1β were significantly increased in middle or old-aged mice. Data represent mean+S.E. for 5 animals/group. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 vs. PBS (Aspin-Welch test). †<0.05, ††<0.001 vs. young-CD3Ab (Dunnett test). \$<0.05, \$\$<0.01, \$\$\$<0.001 vs. young-PBS (Dunnett test).

Conclusion 本研究では、認知機能低下と筋力の低下が認められる加齢マウスにおいて、末梢組織中のNK細胞およびDCが減少する一方で、Th1, Th17, Th1/17細胞が加齢に伴い増加していること、脳ではマクロファージが増加していることを明らかにした。また、加齢マウスでは、脳組織中のIL-1βおよびTNFαが有意に高値を示し、抗CD3抗体刺激に対するサイトカイン産生能も増加していた。これらの成績から、加齢マウスは末梢におけるeffector T細胞の割合や反応性の増加とともに、中枢（脳）でのマクロファージの増加と活性化を特徴とする慢性炎症状態にあることが推察された。また、本老齡マウスは、老化や各種の加齢関連疾患と免疫炎症との関係解明、並びに、加齢関連疾患に関する創薬研究に有用なツールになると考えられる。