

## 47 自己免疫性Th17細胞の疾患制御機構の解明

廣田 圭司

**【目的】** インターロイキン-17 (IL-17) を産生する炎症性 CD4<sup>+</sup>T ヘルパー (Th17) 細胞は、生理的には粘膜組織の感染防御に重要なサブセットである。一方、自己抗原に対する過剰な免疫応答により自己免疫疾患を惹起する。疾患特異的な T ヘルパー細胞の制御機構を標的とした免疫学的治療法の開発には、標的となる自己抗原の理解が鍵となる。しかし、自己免疫性 Th17 細胞の T 細胞受容体 (TCR) が認識する疾患惹起性の自己抗原および抗原特異的な炎症維持機構については未だ不明な点が多い。本研究では、関節炎を制御する自己免疫性 Th17 細胞と制御性 T 細胞の TCR レパートリーを解析し、疾患特異的な TCR レパートリーの特徴を明らかにする。また、関節の滑膜炎に寄与する Th17 細胞、滑膜ストローマ細胞、滑膜自然リンパ球がどのような外的環境因子・炎症細胞死プログラム (Necroptosis, Pyroptosis など) によってクロストークし組織炎症を増悪・慢性化させているのか、これまで明らかになっておらず、関節炎発症・維持における Necroptosis および Pyroptosis の関与を明らかにする。

**【方法】** インターロイキン-17 (IL-17) を産生する炎症性 Th17 細胞によって惹起される自己免疫性関節炎モデル (Il17a<sup>eGFP</sup> Foxp3<sup>hCD2</sup> SKG) マウスを用いて、関節炎局所に局在する IL-17 産生 Th17 細胞と Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞をセルソーターで分取する。全 RNA 抽出、cDNA ライブラリーを作製後、次世代シーケンサーを用いて TCR α 鎖、TCR β 鎖、それぞれの CDR 領域のシーケンス情報を取得した。炎症関連細胞死プログラムである Necroptosis と Pyroptosis に焦点をあて、それぞれの鍵となる分子 Ripk3 と Gsdmd KO マウス (Balb/c 背景) を Crispr/Cas9 システムを用いて作製した。関節炎の発症、増悪化における Necroptosis、Pyroptosis 経路の意義について SKG 関節炎モデルを用いた解析をおこなった。

**【結果】** Il17a<sup>eGFP</sup> Foxp3<sup>hCD2</sup> SKG マウスを作製したことにより、従来の非特異的な再刺激をおこなった後の細胞固定処理をする必要がなくなり、炎症関節組織中で活性化した IL-17 産生 Th17 細胞、Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が解析可能となった。レポーター発現を指標に、関節炎局所の Th17 細胞、制御性 T 細胞をソートし、TCR レパートリーの解析をおこなったところ、関節炎惹起性 Th17 細胞と制御性 T 細胞は異なる TCR レパートリーのパターンを示すことを見いだした。Th17 細胞はオリゴクローナルな TCR レパートリーを有し、制御性 T 細胞はポリクローナルな TCR レパートリーを示した。加えて、Th17 細胞と制御性 T 細胞の TCR レパートリー間の重複は認められなかった。これらの結果は、Th17 細胞と制御性 T 細胞間の可塑性が乏しいことを示唆しており、それぞれ異なる自己抗原に反応して活性化および機能が制御されていることが示唆された。これまで Th17 依存性の関節炎における Necroptosis、Pyroptosis 経路の役割は分かっておらず、それぞれの鍵となる分子である Ripk3 と Gsdmd KO SKG マウスを用いて、Th17 細胞の分化および病態の表現型を評価した。コントロール SKG マウスと同様に、Ripk3 KO SKG と Gsdmd KO SKG マウスに関節炎が誘導された。また、これら経路は Th17 細胞の分化・活性化にも影響を与えなかった。本研究によって、Th17 細胞依存性の自己免疫性関節炎モデルの病態発症および炎症維持にこれら経路は関与しないことが明らかになった。

慢性滑膜炎を制御する CD4<sup>+</sup> T 細胞の TCR レパートリーと細胞死プログラムによる炎症維持機構

