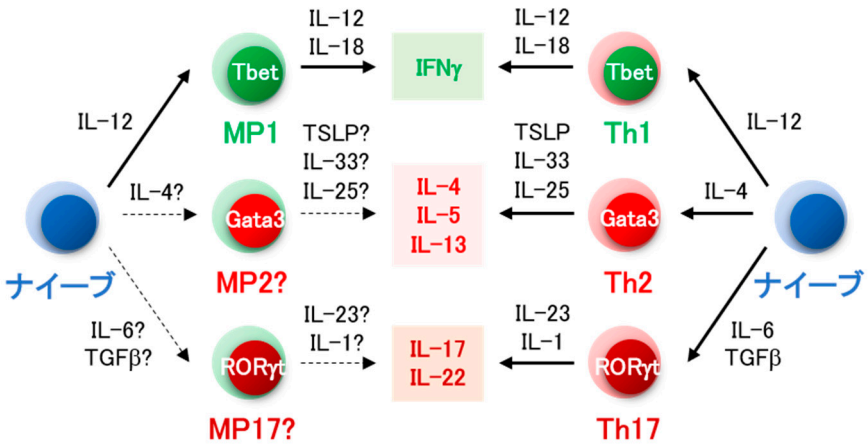
137　新規T細胞「MP細胞」による自己免疫疾患発症機構	河部　剛史

【目的】$CD4^+$T 細胞は外来抗原特異的獲得免疫応答に必須のリンパ球である。これに対し我々は、同細胞中に、外来抗原ではなく自己抗原特異的に産生され恒常的に準活性化状態を呈する新規「MP 細胞」を同定した。本細胞は、獲得免疫の中枢を担うはずの T 細胞にあって自然免疫機能を有するという極めて特異な性質を保持し、現在注目を集めている。MP 細胞は、図のように抗原認識非依存性かつサイトカイン依存性にエフェクター機能を発揮することから、本来は自然免疫的な様式で感染防御に寄与するものと考えられる。一方、MP 細胞は古典的 T 細胞とは異なり自己抗原特異性を有することから、病原体感染時などの炎症性サイトカイン亢進環境下においては本細胞が自己組織に過剰反応し、自己免疫・炎症性疾患を惹起する可能性が類推される。そこで本研究では、MP 細胞の分化・活性化機構を解明し、さらには同細胞による自己免疫・炎症性疾患発症機構を究明することを目的とする。

【方法】MP 細胞の分化機構を解明するために、T-bet/RORγt/Foxp3 レポーターマウスや各種遺伝子欠損マウスを用いた Single cell RNAseq ならびにフローサイトメトリー解析を行った。同細胞の感染防御機能を明らかにする目的で、トキソプラズマ感染実験を行った。MP 細胞による自己免疫・炎症性疾患発症機構を究明するために、MP 細胞を *Rag2* 欠損マウスに移入したうえで各種免疫学的・組織学的解析を行った。

【結果】1. MP 細胞サブセットの同定とその分化機構：生体内各臓器の MP 細胞が T-bet^+ MP1、RORγt^+ MP17、T-bet^- RORγt^- MP0 等の各種サブセットからなることが明らかになった。また、MP 細胞の約半数を占める MP1 細胞は 1 型樹状細胞由来の IL-12 により恒常的に分化誘導され、同 IL-12 産生は無菌的環境下において MyD88 ならびに CD40 シグナル依存的に起こることが分かった。2. MP 細胞サブセットの活性化機構と感染防御機能：上述の MP 細胞の自然免疫機能は主として MP1 サブセットにより担われることが明らかになった。3. 自己免疫・炎症性疾患発症における MP 細胞の機能：制御性 T 細胞の非存在下、MP 細胞は緩徐かつ全身性の Th1 型炎症を惹起する潜在性を有する可能性が示唆された。

MP 細胞（左）および古典的ヘルパーT 細胞（右）の分化ならびに活性化機構



137. 新規 T 細胞「MP 細胞」による自己免疫疾患発症機構

河部　剛史

東北大学 大学院医学系研究科 病理病態学講座 免疫学分野

Key words：T 細胞，恒常性，感染免疫，自己免疫疾患

緒　言

CD4$^+$T 細胞は外来抗原特異的獲得免疫応答における中核となるリンパ球である。すなわち、病原体感染時、外来抗原特異的ナイーブ細胞は爆発的に増殖し、病原体を生体内から排除する。感染終結後、大半のエフェクター細胞は死滅するが、一部の細胞はメモリー細胞として長期に生存し、免疫記憶を形成する。

我々は最近、CD4$^+$T 細胞中の一分画として、外来抗原ではなく自己抗原認識依存的にナイーブ細胞より産生され恒常的に準活性化状態を呈する新規「メモリー表現型細胞（Memory-phenotype cell：MP 細胞）」を同定した［1］。同細胞は、T 細胞でありながら外来抗原認識非依存的かつサイトカイン依存的な様式で感染防御に寄与するという極めて特徴的な自然免疫的性質を有し、新たな自然免疫型 T リンパ球として着目されている［2，3］。

定常状態下、MP 細胞は CD44^{hi} CD62L^{lo} Foxp3$^-$ CD4$^+$ αβT 細胞として定義される。古典的エフェクターCD4$^+$T 細胞の場合、同細胞は機能の違いから Th1、Th2、Th17 等のサブセットに分類され、それぞれマスターレギュレーター転写因子 T-bet、Gata3、RORγt を発現する（図 1 右）。我々は最近、定常状態における MP 細胞もこれと同様に T-bet$^+$MP1、Gata3^{hi} MP2、RORγt$^+$MP17 からなる可能性を見出した（図 1 左）。Th1／2／17 の場合、それぞれのサブセットは特有のサイトカイン依存的分化機構およびエフェクター機能を有するため、MP1／2／17 細胞においても同様の分化・活性化機構が想定される。一方、MP 細胞は古典的 T 細胞とは異なり自己抗原特異性を有することから、病原体感染時などの炎症環境下においては同細胞が自己組織に対し過剰応答し、自己免疫疾患を惹起する可能性が類推される。現に我々は、MP 細胞の炎症原性抑制のためには MP－抗原提示細胞－制御性 T 細胞（Treg）の三者間の相互作用が必須でありその破綻により自己免疫疾患が発症するとの仮説を提唱した［4］。

そこで本研究では、MP 細胞サブセットの分化・活性化機構を解明するとともに、自己免疫疾患の発症における同細胞の寄与を明らかにすることを目的とした。

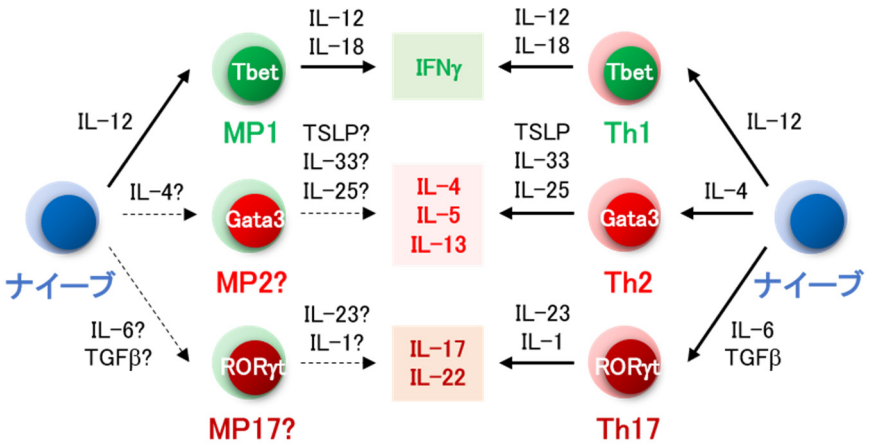


図 1. MP 細胞（左）および古典的ヘルパーT 細胞（右）の分化ならびに活性化機構

方法および結果

1. MP 細胞サブセットの同定とその分化機構

我々はまず、MP 細胞の不均質性（Heterogeneity）を解析する目的で、MP 細胞の single cell RNAseq（scRNAseq）解析を行ったところ、定常状態下において同細胞が Th1 様の MP1、Th17 様の MP17、特定の分化傾向を有さない MP0 等のサブセットに分類されることが明らかになった（図 2a）。次に、T-bet/RORγt/Foxp3 レポーターマウスを用いてこの結果をフローサイトメトリーにおいて確認したところ、同様に T-bet^{+} MP1、RORγt^{+} MP17、T-bet^{-} RORγt^{-} MP0 等のサブセットが検出された（図 2b）。特に、MP1 細胞は T-bet^{high} CXCR3^{+}の極めて高度な分化状態を呈しており、そうした分画が各種リンパ組織や腸・肺における MP 細胞の約半数を占めることが分かった（図 2b、3a）。

次に我々は、MP1 細胞の恒常的分化機構を解析した。その結果、定常状態下において MP1 分化は 1 型樹状細胞（DC1）由来の IL-12 に依存して起こることが示された（図 3a）。この恒常的 IL-12 は DC1 において MyD88 および CD40 シグナル依存的に産生され、さらに、一切の外来抗原・アゴニストを欠損する Antigen-free（AF）マウスにおいても等しく生成されることが証明された（図 3b～d）。これらの事実より、IL-12 の恒常的産生ひいては MP1 分化は自己認識により惹起・増幅されるものと考えられた。

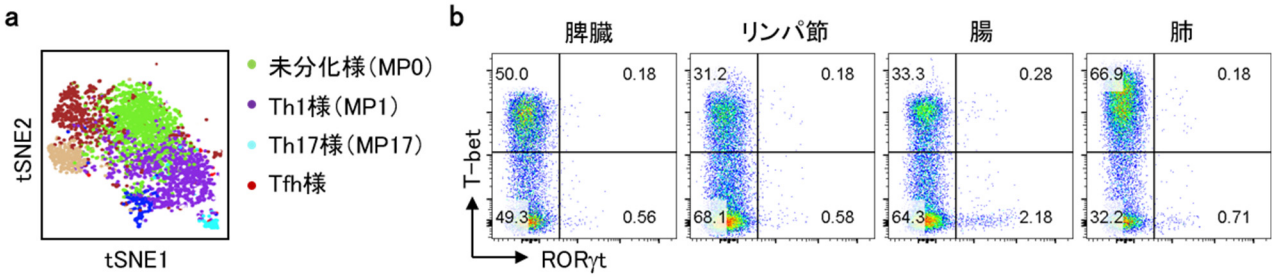


図 2. MP 細胞の不均質性と生体内分布

a) MP 細胞を scRNAseq にて解析し、サブクラスター解析に供した。

b) 各臓器の MP 細胞における T-bet、RORγt の発現を T-bet/RORγt/Foxp3 レポーターマウスを用いて解析した。

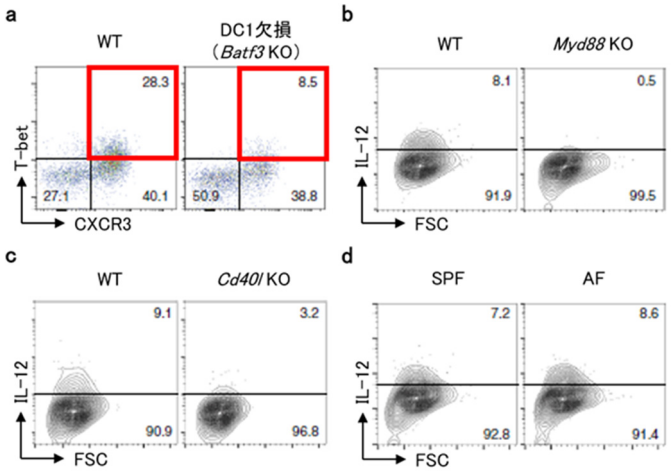


図 3. MP1 分化を促進する IL-12 の恒常的産生機構

a) MP 細胞における T-bet、CXCR3 発現量を野生型（WT）および *Batf3* 欠損（KO）マウスにおいて解析した。赤枠は T-bet^{high} CXCR3^{+}の高度に分化した MP1 サブセットを示す。

b～d) WT、*Myd88*KO、*Cd40l*KO、AF マウスの DC1 における IL-12 の産生量を解析した。

2. MP 細胞サブセットの活性化機構と感染防御機能

上記の MP1 細胞のエフェクター機能を詳細に解析したところ、トキソプラズマ感染時、同細胞は TCR シグナル非存在下においても IL-12／18 に反応して IFN-γを産生することが明らかになった。さらに、免疫不全マウスに MP0 や MP1 細胞を移入したうえで同マウスを *Toxoplasma gondii* 感染に供し、さらに抗原認識を抗体投与によりブロックしたうえで生存解析を施行したところ、同細胞移入は生存期間を有意に延長することが分かった（図 4）。以上より、MP1 サブセットは自然免疫的感染防御機能を有することが証明された。

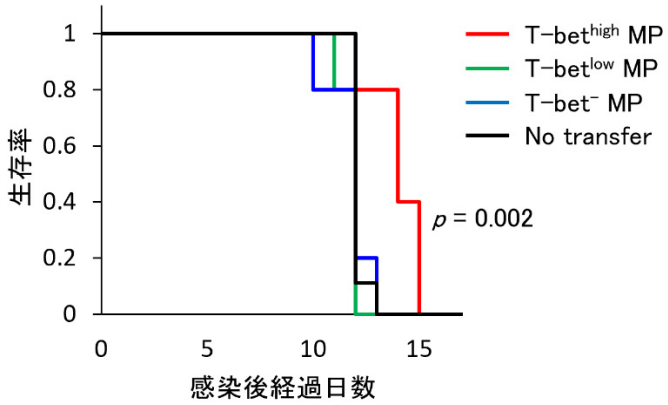


図 4. MP1 サブセットによる自然免疫的感染防御機能

T-bet^{high}、T-bet^{low}、T-bet^{-} MP細胞を*Rag2 Il2rg* KOマウスに移入し、同マウスを *T. gondii* 感染に供したうえで生存解析を施行した。観察期間中、抗I-Aβ抗体を投与することでT細胞抗原認識を阻害した。Log-rank testにより検定を行った。

3. 自己免疫・炎症性疾患発症における MP 細胞の機能

*Rag2*KO マウスにナイーブ $CD4^{+}$T 細胞を移入すると、激烈な腸炎を発症する [3]。そこで我々は、MP 細胞を *Rag2* KO マウスに移入したところ、腸炎は軽快した一方、数週間の経過を経て緩徐かつ全身性の炎症（大腸炎、胃炎、間質性肺炎、肝炎、腎炎、卵巣炎など）が惹起されることが明らかになった（図 5a，b）。同炎症は Th1 優位であり、また制御性 T 細胞の共移入によって抑制されることも分かった。

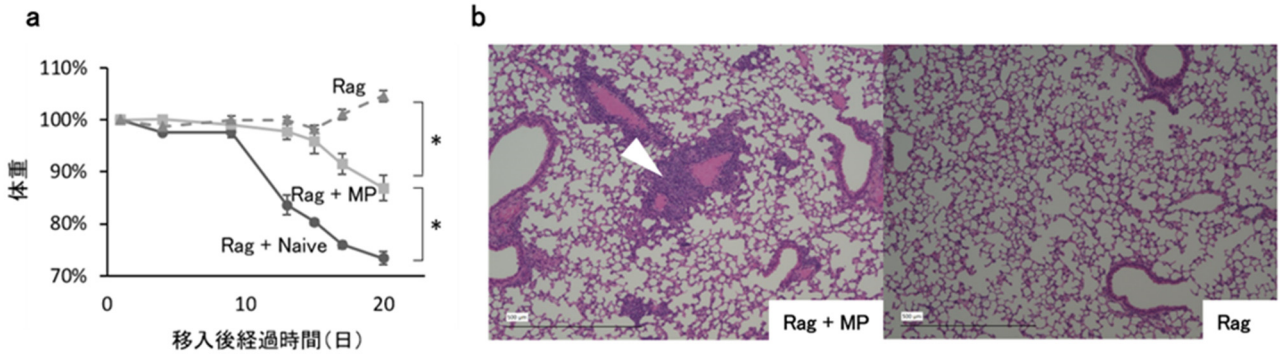


図 5. MP 細胞により惹起される炎症

a) MP またはナイーブ $CD4^{+}$T 細胞を *Rag2* KO マウスに移入し、経時的に体重を測定した。t-test により検定を行った（*p<0.05）。

b) MP 細胞を移入後、4 週間後に肺の組織像を H&E 染色にて観察した。矢印はドナーリンパ球の集簇を示す。スケールバー：500μm。

考　察

上記の一連の研究により、定常状態における MP1 細胞の分化機構や自然免疫的感染防御機能が証明された。このことから、MP2／17 に関しても同様にそれぞれ固有の分化機構や感染防御機能の存在が示唆され、現在、MP 細胞の分化機構・エフェクター機能を包括的に解明するプロジェクトが鋭意進行中である（投稿準備中)。一方で我々は、MP 細胞が全身性炎症を惹起する潜在性を有することを示唆する所見を得た。この知見は、MP 細胞が自己免疫疾患の本質的病因であるとの我々の従来からの仮説を強く支持している［4]。今後、MP 細胞による全身性炎症惹起メカニズムを分子レベルで明らかにすることにより、自己免疫疾患の本質的な病態を解明できるものと期待される（投稿準備中)。

さらに、我々は、上述の scRNAseq 解析の結果、MP 細胞の特異的マーカーとなる候補分子をいくつか同定することに成功した。そしてそのマーカーを用い、ヒトにおける MP 細胞の検出にも成功した（投稿準備中)。今後、MP 細胞と従来型の古典的メモリー細胞との差異を明らかにすることで、T 細胞免疫学におけるパラダイムシフトをもたらすことになるものと期待される。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、東北大学大学院医学系研究科免疫学分野の石井直人教授である。このような研究の機会を与えてくださった上原記念生命科学財団に心より御礼申し上げます。

文　献

1) Kawabe T, Jankovic D, Kawabe S, Huang Y, Lee PH, Yamane H, Zhu J, Sher A, Germain RN, Paul WE. Memory-phenotype CD4+ T cells spontaneously generated under steady-state conditions exert innate TH1-like effector function. Sci Immunol. 2017 Jun 16;2(12):eaam9304. doi: 10.1126/sciimmunol.aam9304. PMID: 28783663; PMCID: PMC5568832.

2) Kawabe T, Zhu J, Sher A. Foreign antigen-independent memory-phenotype CD4+ T cells: a new player in innate immunity? Nat Rev Immunol. 2018 Feb 26;18(3):1. doi: 10.1038/nri.2018.12. PMID: 29480287.

3) Kawabe T, Yi J, Sprent J. Homeostasis of Naive and Memory T Lymphocytes. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2021 Mar 22:a037879. doi: 10.1101/cshperspect.a037879. Epub ahead of print. PMID: 33753403.

4) Yi J, Kawabe T, Sprent J. New insights on T-cell self-tolerance. Curr Opin Immunol. 2020 Apr;63:14-20. doi: 10.1016/j.coi.2019.10.002. Epub 2019 Nov 28. PMID: 31786417.