

肺粘膜滞在型メモリーCD8T 細胞分化調節機構の解明

高村史記

近畿大学 医学部 免疫学教室

【研究の背景】

呼吸器粘膜に長期間維持されるインフルエンザウイルス特異的組織滞在型メモリーCD8T 細胞(CD8 T_{RM})は、ウイルス内部タンパクを標的とすることであらゆる株に交差反応性を示し、かつ、局所にてウイルス感染細胞を直接傷害することで防御免疫の最前線を担う。従って、この細胞集団を呼吸器粘膜にていかに効率よく誘導するかが今後のワクチン開発の最重要課題である。

CD8T 細胞はリンパ節にて活性化された後、エフェクターCD8T 細胞へと分化し感染局所に移行する。その一部が組織特有のシグナルを受領することで T_{RM} への分化が誘導される¹⁾。このシグナルは各粘膜にて異なる事が示唆されており、肺 T_{RM} 分化誘導には局所抗原刺激が重要であることが示されていたが^{2, 3)}、どのような細胞が抗原刺激を供給しているのかは未だ不明である。

【目 的】

我々はマウス感染モデルを用いて、感染により生じた肺組織損傷部位に一時的に形成される修復巣が肺 CD8 T_{RM} 分化・蓄積の場であることを世界で初めて突き止め、この部位を Repair-Associated Memory Depot: RAMD と命名した³⁾。RAMD 内の CD8 T 細胞は肺マクロファージと共局在していることより、肺マクロファージが CD8 T_{RM} 分化を調節している可能性が示唆された。本研究では肺 CD8 T_{RM} 分化における肺マクロファージの役割を解明することを目的とした。

【方 法】

1. ウイルス感染後の肺マクロファージの動態
マウスインフルエンザウイルス感染系を用い、ウイルス感染後の肺組織を経時的に観察し、CD8T 細胞と肺マクロファージの局在、及び、両者の位置関係を調べた。
2. 肺マクロファージによるウイルス抗原提示
OVA 発現インフルエンザウイルス感染後の肺マクロファージを分離し、OVA 特異的 T 細胞受容体発現トランスジェニックマウス CD8T 細胞(OT-1 細胞)と共培養することで、マクロファージがウイルス抗原を自身の MHC クラス 1 上に発現できるかどうかを調べた。
3. 肺局所における抗原提示抑制による肺 CD8 T_{RM} 分化への影響
MHC 上に提示された OVA 抗原と OT-1 細胞の結合を阻害する抗体(クローン 25-D1.16)をウイルス感染後に経鼻接種することで OVA エピトープ提示をブロックし、肺局所における OVA 特異的 CD8T 細胞の活性化状況の変化及び CD8 T_{RM} 分化状況の変化を検討した。
4. 肺 CD8 T_{RM} 分化における肺マクロファージの役割
炎症性マクロファージの肺移行に重要な役割を果たすケモカイン受容体 CCR2 欠損マウスを用い、ウイルスを感染後の肺マクロファージ数及び CD8 T_{RM} 分化状況の変化を検討した。

【結 果】

1. 感染マウスの肺組織切片の染色にて、感染 5 日後頃から CD8 T 細胞の浸潤が散見され始め、感染 8 日後には、後にメモリー CD4 T 細胞蓄積部位となる誘導型肺気管支関連リンパ組織、すなわち iBALT 領域(この時点では B 細胞による濾胞様構造として確認される)と、CD8 T 細胞が集積する領域(おそらく後に CD8 T_{RM} 蓄積部位となる RAMD)が明確に識別された。特に、CD8 T 細胞浸潤部位には必ず F4/80 陽性、CD11b 陽性マクロファージの浸潤が見られ、RAMD 領域にて両者は互いに密接して存在していた。
2. OVA 発現インフルエンザウイルス感染後の肺マクロファージと OT-1 細胞を共培養することで OT-1 細胞における活性化マーカー CD69 の発現及び増殖反応が確認された。このような増殖反応は OVA 抗原を持たないウイルス感染マウスの肺から分離したマクロファージとの共培養では確認されなかった。
3. ウイルス感染早期にクローン 25-D1.16 を経鼻接種し肺局所における OVA 抗原提示をブロックしたところ、OVA 特異的肺 CD8T 細胞の CD69 発現の著しい減少が確認された。また、感染 30 日後に OVA 特異的肺 CD8 T_{RM} 分化数の現象がみられた。このような変化は異なるウイルスタンパク特異的 CD8T 細胞では確認されなかった。
4. CCR2 欠損マウスにインフルエンザを感染させたところ、感染早期の肺に移行する炎症性マクロファージが激減した。しかしながら、CCR2 欠損マウス及び野生型マウス肺におけるエフェクター CD8 T 細胞数及び機能に差は見られず、ウイルスの排除も速やかに行われた。一方、感染 45 日後の CCR2 欠損マウスにて肺 CD8 T_{RM} 数の現象が確認された。

【考 察】

上記の結果より、肺マクロファージが感染局所にて CD8T 細胞に抗原刺激を与えることが肺 CD8 T_{RM} 分化に重要であることが示された。肺樹状細胞も肺局所抗原刺激の供給源となり得るが、その強力な刺激形態(補助刺激因子等の影響)より、T_{RM} 分化ではなく、エフェクター機能の成熟に関与している可能性が示唆される。また、局所抗原提示抑制下での肺 CD8 T_{RM} 分化抑制は部分的であったため、肺マクロファージが抗原提示以外にも肺 CD8 T_{RM} 分化を促進する因子を供給している可能性が示唆され、更なる解析の必要性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

肺 CD8 T_{RM} を効率よく分化誘導するワクチン開発において、肺マクロファージの浸潤誘導及び抗原提示の重要性が示された。マクロファージは抗原提示以外にも、組織修復、即ちレジデントメモリー蓄積部位の構築にも重要な役割を果たしていることが示唆される。従って、局所へのマクロファージ浸潤とその機能調節は、肺 CD8 T_{RM} 誘導ワクチン開発における重要なコンセプトとなる。

【参考・引用文献】

- 1) **Takamura S**, Niches for long-term maintenance of tissue-resident memory T cells. *Front. Immunol.* 2018 May 31;9:1214
- 2) **Takamura S**. Persistence in temporary lung niches: a survival strategy of lung-resident memory CD8⁺ T cells. *Viral Immunol.* 2017 Jul/Aug; 30(6):438-450.
- 3) **Takamura S**, Yagi H, Hakata Y, et al. Specific niches for lung-resident memory CD8⁺ T cells at the site of tissue regeneration enable CD69-independent maintenance. *J. Exp. Med.* 2016 Dec 12;213(13):3057-73.