

## メモリーCD4 T細胞の免疫老化制御機構の解明

安藝大輔

慶應義塾大学 微生物学免疫学教室

### 【研究の背景】

加齢に伴う個体レベルでの免疫系の機能的変化、いわゆる「免疫老化」は、易感染や自己免疫疾患、発がんなどと密接に関わっている。免疫老化にはメモリーCD4 T細胞を介した獲得免疫能の異常が関連することが示唆されている。正常個体において、メモリーCD4ヘルパーT細胞は、加齢に伴い老化関連T細胞 (Senescence-related T cell:Tsen)と呼ばれる特徴的なT細胞サブセットへと転換される。Tsenの形質として、共抑制性分子であるPD-1やTIM-3の発現、抗原刺激に対する低応答性や炎症性サイトカインの産生亢進が挙げられる。しかしながら、Tsenの発生に関わるマスター遺伝子や環境因子も含めその形質獲得の分子メカニズムはほとんど未解明である。

### 【目 的】

機能的なメモリーCD4 T細胞の維持によって免疫不全、発がんや慢性炎症を抑制することができれば健康長寿の延長が期待できる。そこで本研究では、加齢に伴い増加するTsenの発生や形質維持に関わる制御因子を同定し、その分子基盤を明らかにする。

### 【方 法】

マウスナイーブCD4 T細胞を用いて、*in vitro*および*in vivo*でTsenを誘導することにより、Tsen制御因子を探索する。転写因子を含む52種類の分子発現ライブラリー及び標的shRNA発現ライブラリーをナイーブCD4 T細胞に導入し、炎症性素因の発現や増殖応答性を指標に、候補分子の同定を行う。並行して、ライブラリー導入細胞をリンパ球欠損マウスに移入、恒常性増殖に伴い誘導されるTsen分画を解析することで候補分子を同定する。さらに、候補分子の発現抑制や過剰発現細胞におけるトランスクリプトーム解析を実施し、当該遺伝子によるTsen形質獲得機構の詳細を明らかにする。

### 【結 果】

110 週齢を超えた老齢マウスの脾臓において、CD4<sup>+</sup>CD44<sup>high</sup>PD-1<sup>+</sup>TIM-3<sup>+</sup> Tsen 細胞の顕著な蓄積を見出した。RNA シーケンスによる詳細な遺伝子発現解析を行った結果、若齢マウス由来のメモリーCD4 T細胞と比較して老齢マウスの細胞では、細胞傷害性 (cytotoxicity) や疲弊 (exhaustion) 形質に関連する遺伝子の発現上昇が認められた。そこで、発現ライブラリーを導入した CD4 T細胞を RAG2 欠損マウスに移入し、cytotoxicity や exhaustion を制御する遺伝子の探索を行った。その結果、探索遺伝子のうち 3 個を cytotoxicity、5 個を exhaustion の制御因子の候補としてそれぞれ同定した。とりわけ核内受容体 Nr4a ファミリーはその単独過剰発現細胞において PD-1<sup>+</sup>TIM-3<sup>+</sup>細胞集団の誘導を著しく促進した。また *in vitro* の解析においても Nr4a 導入細胞は TCR 刺激に対する低応答性や炎症性素因の増大など、Tsen にきわめて類似した表現型を示した。RAG2 欠損マウスに移入した Nr4a3 過剰発現細胞のトランスクリプトーム解析を実施したところ、Tsen 関連遺伝子の発現上昇が認められた。一方で、Nr4a ファミリー欠損 CD4 T細胞は野生型の細胞と比べ、*in vitro* 及び *in vivo* で増殖能の亢進を示した。さらに Nr4a3 レポーターマウスを用いた解析から、Nr4a3 は PD-1<sup>+</sup>TIM-3<sup>-</sup>や PD-1<sup>+</sup>TIM-3<sup>+</sup>と比較して PD-1<sup>+</sup>TIM-3<sup>+</sup>

の細胞集団において強く発現していることを見出した。

### 【考 察】

本研究より、Nr4a ファミリーが Tsen を介した免疫老化の誘導に関与する可能性が示唆された。最近 Nr4a が慢性ウイルス感染や担ガン状態下で CD8 T 細胞の疲弊化を誘導することが報告された<sup>1)</sup>が、免疫老化における機能については不明である。CD4 T 細胞では Nr4a の発現によって疲弊形質が促進されていることに加え、炎症性素因の発現が上昇していることは興味深い。さらに重要なことに、Nr4a が疲弊を誘導する分子機構は現在のところ、全く未解明である。申請者は Nr4a3 過剰発現細胞、及び Nr4a 欠損細胞におけるトランスクリプトーム解析から複数の転写因子の発現が Nr4a3 の発現に依存して変動していることを見出した。そこで、これらの転写因子と Tsen 形質との関連性について現在解析中である。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

近年、米国にてがん患者由来のEngineered chimeric antigen receptor T (CAR-T) 細胞を用いた腫瘍免疫療法が急性リンパ性白血病治療において承認された。しかし固形腫瘍においては、CAR-T細胞の疲弊による抗腫瘍機能の低下が治療効果の持続性を損なうという問題に直面している。したがって、CD4 T細胞のTsen化に関する分子機構の解明は、腫瘍免疫療法の成績改善を目指す上での新たな戦略を提案しうると考えられる。

### 【参考・引用文献】

1. Chen J. et al. NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumors. Nature. 2019;567(749):530-534.