

## 新規の T 細胞「MP 細胞」による感染防御および自己免疫疾患発症機構の解明

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

### 【研究の背景】

CD4<sup>+</sup> 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。これに対し申請者は、同細胞中に、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細胞集団「Memory-phenotype (MP) 細胞」を同定した<sup>1)</sup>。本細胞は、獲得免疫の中核を担うはずの 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<sup>2)</sup>。

MP 細胞は、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サイトカインを産生しうることから、本来は自然リンパ球 (ILC) と類似の機序で自然免疫的感染防御に寄与するものと考えられる。一方、同細胞は ILC 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。

### 【目 的】

そこで本研究では、MP 細胞の分化機構や感染防御機能を解明し、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 トリプル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 (scRNAseq) ならびにフローサイトメトリー解析を行った。また、同細胞の感染防御機能を明らかにする目的で、野生型や各種遺伝子改変マウスを *Toxoplasma gondii* 感染に供し生存解析等を施行した。さらに、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* 遺伝子欠損 (*Rag2* KO) マウスに移入したうえで各種フローサイトメトリー解析や組織学的解析 (H&E や免疫組織化学染色など) を施行した。

### 【結 果】

#### (i) 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、T-bet/RORγt/Foxp3 レポーターマウス由来の MP 細胞の scRNAseq ならびにフローサイトメトリー解析を行ったところ、定常状態下において MP 細胞が T-bet<sup>+</sup> MP1、RORγt<sup>+</sup> MP17、T-bet<sup>-</sup> RORγt<sup>-</sup> MP0 等のサブセットから構成されることが明らかになった。特に MP1 細胞は T-bet<sup>hi</sup> CXCR3<sup>+</sup> の極めて高度な分化状態を呈しており、そうした分画が MP 細胞のうち約半数を占めることが分かった。

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。この恒常的 IL-12 は DC1 において TLR-MyD88 および CD40 シグナル依存的に産生され、さらに、正常細菌叢を欠く Germ-free マウスや一切の外来抗原・アゴニストを欠損する Antigen-free マウスにおいても等しく生成されることが証明された。これらの事実より、IL-12 の恒常的産生については 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る。

#### (ii) MP 細胞の感染防御機能

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- $\gamma$  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 MP1 細胞を移入したうえで同マウスを *T. 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。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。

#### (iii) 自己免疫・炎症性疾患における MP 細胞の機能

*Rag2* KO マウスにナイーブ CD4<sup>+</sup> T 細胞を移入すると、激しい腸炎を発症する。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。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。

### 【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、我々は上述のように、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<sup>3)</sup>。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し、さらに制御性 T 細胞による抑制機構を解析することにより(投稿準備中)、T 細胞の恒常性維持機構の全容解明につながることを期待される。

また我々は、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(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、メモリー T 細胞研究領域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強く期待される。

### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

申請者は、従来機能不明とされてきた MP 細胞の自己特異性を既に発見しており<sup>1)</sup>、今回の研究により、MP 細胞が自己免疫疾患発症の根本的責任細胞である可能性が現実味を帯びてきた。長らく責任サイトカインの同定・制御に主軸が置かれ、責任細胞は不詳のままであった当研究分野において、後者に着眼しこれを同定しようとする試みは、大きな重要性を有する。本研究が完遂された暁には、これまで未知であった同疾患の病態の解明ならびにその制御、例えば同細胞を標的とする創薬による新規かつ根治的な治療法の創出・確立に資するものと期待され、その医学的意義は計り知れない。

### 【参考・引用文献】

1. Kawabe T\*, Jankovic D, Kawabe S, Huang Y, Lee PH, Yamane H, Zhu J, Sher A\*, Germain RN\*, Paul WE. Memory-phenotype CD4<sup>+</sup> T cells spontaneously generated under steady-state conditions exert innate T<sub>H</sub>1-like effector function. *Sci Immunol* **2**(12), eaam9304, 2017.
2. Kawabe T\*, Zhu J, Sher A\*. Foreign antigen-independent memory-phenotype CD4<sup>+</sup> T cells: a new player in innate immunity? *Nat Rev Immunol* **18**(3), 1, 2018.
3. Yi J, Kawabe T, Sprent J\*. New insights on T-cell self-tolerance. *Curr Opin Immunol* **63**, 14-20, 2020.