

新規の自然免疫型 T 細胞の機能制御による新たな感染症治療戦略の創出

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⁺ 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¹⁾。本細胞は、獲得免疫の中核を担うはずの T 細胞にあつ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^{2,3)}。

MP 細胞は、抗原認識非依存性かつサイトカイン反応性にエフェクターサイトカインを産生しうることから、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。実際に我々は、自然リンパ球における ILC1/2/3 分類と同様に、MP 細胞が MP1/2/17 サブセットに分類され得ることを報告した⁴⁾。このことから、MP1/2/17 サブセットがそれぞれ固有の分化機構や感染防御機能を有する可能性が示唆される。

【目 的】

上記の研究背景を踏まえ、本研究では MP 細胞の免疫学的特性や分化・活性化機構を解明し、さらには同細胞による自然免疫的感染防御機能を究明することを目的とした。

【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。

【結 果】

(i) MP 細胞の特性

MP 細胞は自己抗原認識依存的に産生され、病原体感染時には自然免疫機能を発揮する。このことから同細胞は、外来抗原特異的に活性化し獲得免疫を担う抗原特異的メモリー T 細胞とは質的に異なる存在であるものと考えられる^{2,3)}。しかし、両者を鑑別するマーカーはこれまで同定されていなかった。

そこで我々はまず、single cell RNAseq (scRNAseq) 解析により、MP 細胞とリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) 特異的メモリー T 細胞の遺伝子発現プロファイルを比較した。その結果、両者を区別するマーカーの候補として、CD127、Sca1、Bcl2 の遺伝子が同定された。そこで両細胞におけるこれらの蛋白発現を比較したところ、全ての抗原特異的メモリー T 細胞が CD127^{hi} Sca1^{hi} Bcl2^{hi} の表現型を有するのに対し、MP 細胞は CD127^{hi} Sca1^{lo}、CD127^{hi} Sca1^{hi}、CD127^{lo} Sca1^{hi}、CD127^{lo} Sca1^{lo} (全て Bcl2^{lo}) の 4 細胞集団に分類されることが分かった。すなわち、MP 細胞の鑑別マーカーとして CD127、Sca1、Bcl2 が同定された⁵⁾。

我々はさらに、CD127、Sca1 により定義される MP 細胞 4 集団を詳細に解析した。その結果、CD127^{lo} 分画は新たに産生

された増殖中の MP 細胞を意味するのに対し、CD127^{hi} Sca1^{hi} 分画は既に増殖・分化を経て分裂静止状態となった MP 細胞を多く含むことが明らかになった。さらに、後者分画は Th1 型転写因子 T-bet を発現し、炎症原性を有することも判明した⁵⁾。

現在は上記の MP 細胞の heterogeneity に関する知見をもとに、同細胞の TCR repertoire の解析、ヒト MP 細胞の同定等を施行中である(責任・最終著者として投稿中)。

(ii) MP 細胞の分化機構

我々は、定常状態下において MP 細胞が T-bet⁺ MP1、RORγt⁺ MP17、T-bet⁻ RORγt⁻ MP0 等の多彩なサブセットから構成されることを明らかにした。特に MP1 細胞は T-bet^{hi} CXCR3⁺の極めて高度な 1 型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⁴⁾。

そこで我々は、MP1 分画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 TLR7-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・増幅されることが明らかになった⁶⁾。

現在、MP 細胞に含まれる他のサブセットに関しても同様に、その分化機構を解析中である。

(iii) MP 細胞の感染防御機能

MP1 細胞のエフェクター機能を詳細に解析したところ、*in vitro* において、同細胞は TCR シグナル非存在下においても IL-12/18/2 に反応して IFN-γ を産生することが明らかになった⁵⁾。また、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。さらに、IL-12 を人為的に投与したうえで同様の実験を行うと、MP1 による延命効果が劇的に改善することも明らかになった。以上より、MP1 サブセットが MP 細胞による自然免疫機能の主軸を担うことが証明された。現在、MP2/17 サブセットに関しても同様に、その活性化機構や感染防御機能を検討中である⁶⁾。

【考 察】

上記の一連の研究により、MP 細胞の免疫学的特性や自然免疫的感染防御機能が証明された。このことから、MP1/2/17 サブセットがそれぞれ固有の分化機構や感染防御機能を有する可能性が示唆され、実際に我々は、MP1/2/17 細胞を人為的に活性化することにより病原体の特異性によらず幅広く感染症に対応するという新規「免疫賦活化治療」の概念を提唱した^{7,8)}。

一方で我々は、本研究において、MP 細胞が全身性の炎症を惹起しうることを発見した(投稿中、一部は文献 5 にて発表)。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仮説⁶⁻⁸⁾を強く支持している。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、「免疫賦活化治療」に伴う炎症副作用の軽減にも資するものと期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

抗菌薬や抗ウイルス薬等による従来の感染症治療においては、薬剤によって標的微生物が限定的であったために、COVID-19 のような新興感染症に対して創薬に時間がかかり、薬剤耐性変異を獲得した病原体への対応も困難であった。これに対し申請者は今回、MP 細胞を人為的に活性化することで病原体の特異性によらず感染症の初期段階での幅広い対応を可能にする新たな治療戦略「免疫賦活化治療」を提唱した^{7,8)}。本研究が完遂されれば未知の病原体感染に対しても普遍的な治療戦略を提供できることとなり、その医学的意義は計り知れないものと期待される。

【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⁺ T cells spontaneously generated under steady-state conditions exert innate T_H1-like effector function. *Sci Immunol* **2**(12), eaam9304, 2017.
2. Kawabe T*, Zhu J, Sher A*. Foreign antigen-independent memory-phenotype CD4⁺ T cells: a new player in innate immunity? *Nat Rev Immunol* **18**(3), 1, 2018.
3. Kawabe T*, Yi J, Sprent J*. Homeostasis of naïve and memory T lymphocytes. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **13**(9), a037879, 2021.
4. Kawabe T*, Yi J, Kawajiri A, Hilligan K, Fang D, Ishii N, Yamane H, Zhu J, Jankovic D, Kim KS, Trinchieri G, Sher A*. Requirements for the differentiation of innate T-bet(high) memory-phenotype CD4(+) T lymphocytes under steady state. *Nat Commun* **11**(1), 3366, 2020.
5. Kawabe T*, Ciucci T, Kim KS, Tayama S, Kawajiri A, Suzuki T, Tanaka R, Ishii N, Jankovic D, Zhu J, Sprent J, Bosselut R, Sher A*. Redefining the Foreign Antigen and Self-Driven Memory CD4⁺ T-Cell Compartments via Transcriptomic, Phenotypic, and Functional Analyses. *Front Immunol* **13**, 870542, 2022.
6. Kawabe T*, Sher A*. Memory-phenotype CD4⁺ T cells: a naturally arising T lymphocyte population possessing innate immune function. *Int Immunol* **34**(4), 189-196, 2022.
7. Kawabe T*. Memory-phenotype CD4⁺ T Lymphocytes: A Novel Therapeutic Target in Infectious or Autoimmune Diseases? *JMA J* **5**(3), 298-306, 2022.
8. Kawabe T*. Homeostasis and immunological function of self-driven memory-phenotype CD4⁺ T lymphocytes. *Immunol Med* **11**, 1-8, 2022.