

濾胞性 T ヘルパー細胞の記憶細胞分化機構の解明

森 大輝

大阪大学 感染症総合教育研究拠点 感染症・生体防御研究部門 生体応答学チーム

【研究の背景】

免疫応答を活性化する場所であるリンパ節は、主に T 細胞領域と B 細胞領域に分けられる。感染などが起こり、その抗原がリンパ節に流入すると、一部の活性化された T 細胞が B 細胞領域に進入する。この B 細胞領域に進入した T 細胞は濾胞性 T ヘルパー細胞 (T follicular helper cells; Tfh 細胞) と呼ばれ、その後、胚中心 (Germinal center; GC) と呼ばれる構造に入り、B 細胞の活性化を助ける役割を果たす。Tfh 細胞は、この胚中心で B 細胞の形質細胞分化や抗体の親和性成熟に重要であることが知られている。この Tfh 細胞への分化には Bcl6 と呼ばれる転写因子が重要であることなどが明らかとなっているが、Tfh 細胞が胚中心に進入する機序や、胚中心に入った Tfh 細胞がどのような運命をたどるのか、その詳細はこれまでにあまり明らかにされていない。

【目 的】

Tfh 細胞が胚中心に進入する機序やその後の運命決定機構の詳細は不明である。T 細胞には抗原を認識する受容体として T 細胞受容体 (T cell Receptor; TCR) が発現し、成熟過程において獲得した多様性によって様々な免疫応答を惹起できると考えられている。そこで本研究では、(1) T 細胞の抗原認識機構が Tfh 細胞分化や運命決定に与える役割を解析すること、(2) 胚中心 Tfh 細胞の遺伝子発現・TCR レパトアの詳細を解析すること、を目的とした。

【方 法】

T 細胞免疫応答を評価する実験系として、Influenza A virus によるマウス感染実験モデルを用いた。目的(1)の抗原特異的 T 細胞を解析するために、pMHC-tetramer を作製し、感染モデルでの抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞の採取を行った。(2)では胚中心 Tfh 細胞を解析するためにマーカーとして S1PR2 を用い、セルソーターを用いて採取した。それぞれ採取した細胞はシングルセル RNA 解析を用いて、遺伝子発現解析と TCR レパトア解析を行い、Tfh 細胞分化・機能と TCR レパトアの関連や、胚中心 Tfh 細胞の遺伝子発現を元にしたサブセット解析を行った。

【結 果】

インフルエンザ感染モデルにおける抗原特異的 T 細胞を採取し、シングルセル RNA 解析を行った。遺伝子発現を基にしたクラスタリングや UMAP を用いた次元圧縮などにより、採取した抗原特異的 T 細胞のサブセットを、CXCR5 や S1PR2 を発現する Tfh 細胞、KLF2 など発現する記憶細胞、CXCR6 を発現する Th1 細胞などのクラスターに分類した。その後、これらの細胞集団の TCR レパトア解析を行った。それぞれの集団に属する細胞が持つ TCR レパトアを解析したところ、Tfh 細胞では優位に増殖しているクローンが大多数を占めていること、一方、Th1 細胞では、いくつかのクローンが優位に増殖しているものの、母集団に比べるとクローンの多様性が高い傾向があった。また、それぞれの細胞集団で検出されたクローンの特異性と冗長性を検討したところ、Th1 細胞、Tfh 細胞、記憶細胞の集団で共通するクローンは 14 個存在した。また、この 14 個のクローンのいずれかをもつ T 細胞は、全体の 90% 以上を占めることが明らかとなった。一方で、共通するクローンの中で

も、均一に分化しているもの、Tfh 細胞に分化しやすいもの、Th1 細胞に分化しやすいものなどが存在することが明らかとなった。

次に、胚中心 Tfh 細胞での遺伝子解析と TCR レパトア解析を行った。遺伝子発現解析を元にしたクラスタリングの結果、C1、C2、C3、C4 の 4 つのクラスターに分類できる可能性が明らかとなった。これらの細胞の TCR レパトア解析を行ったところ、それぞれのクラスター全てで共通する TCR レパトアはほとんどないことが明らかとなった。一方、C2 のクラスターにはそれぞれ、C1 もしくは C3 と共通の TCR クローンが存在することが明らかとなった。以上の結果より、胚中心 Tfh 細胞はいくつかのサブセットに分かれており、その分化は TCR もしくは抗原特異性によって制御されている可能性が考えられる。

【考 察】

今回の結果によって、感染応答に伴って優位に増殖するクローンは、T 細胞の異なる細胞型に分化する能力を持ち、免疫応答の多様性を担保していると考えられる。また、胚中心 Tfh 細胞は 4 つのクラスターに分類できることが明らかとなった。このうち C2 に分類された細胞には、C1 に共通する TCR を発現するものと、C3 に共通する TCR を発現するものが存在することが明らかとなった。この結果より、(i) C2 は C1 と C3 へ分化する細胞の前駆細胞である可能性、(ii) C2 は記憶細胞プールであり C1 や C3 から分化している、可能性が考えられる。今後は、これらの可能性を検討するために、CRISPR-Cas9 法などの手法を用いて分子メカニズムの解明を行う研究を推進していきたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

Tfh 細胞は B 細胞活性化を助け、抗体親和性成熟や抗体を大量に産生する形質細胞への分化に重要な役割を果たすため、良質な抗体を産生するためには必須の細胞である。そのため、Tfh 細胞の運命決定機構や記憶細胞への分化を明らかにできれば、効率の良いワクチンの開発などにつながる。本研究では胚中心に進入した Tfh 細胞がいくつかのサブセットに分類できる可能性を明らかにできた。今後これらの細胞を詳細に解析し、その分化過程の分子メカニズムを明らかにすることで、効率の良いワクチン法の開発に貢献できることが期待される。