

論 文 概 要

○ 論 文 題 目

The anergy induction of M3 muscarinic acetylcholine receptor-reactive CD4+ T cells suppresses experimental sialadenitis-like Sjögren's syndrome

(M3 ムスカリン作働性アセチルコリン受容体反応性 CD4+T 細胞のアナジー誘導によるシェーグレン症候群様唾液腺炎マウスモデルの抗原特異的制御)

○ 指 導 教 員

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 住田孝之 教授

筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

浅島弘充

論文概要

目的：

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome; SS) は慢性唾液腺炎を主徴とする自己免疫疾患であるが、根治的治療法はない。近年、SS の自己抗原として唾液腺に高発現し唾液分泌に重要な役割を果たす M3 ムスカリン作働性アセチルコリン受容体 (M3R) が注目されている。M3R の細胞外領域をコードした混合ペプチドを M3R 欠損マウスに免疫し、その脾細胞を Rag1 欠損マウスに移入することで SS 類似の唾液腺炎が発症する (M3R induced sialadenitis; MIS)。本マウスモデルは、M3R 反応性 T 細胞が唾液腺炎の発症に重要であること、IFN- γ や IL-17 といったサイトカインが病態形成に関与することが示されている。一方、TCR 結合部のアミノ酸を置換した変異ペプチド (altered peptide ligand; APL) は、T 細胞の機能抑制を誘導する。

MIS を用いて M3R 反応性 T 細胞のエピトープを明らかにし、APL を用いた抗原特異的制御法の構築を目的とした。

方法：

- 1) M3R 混合ペプチド (N1、N2、N3、1st、2nd、3rd) を免疫した M3R^{-/-}マウスの脾細胞を各ペプチドで刺激し、サイトカイン産生を測定した。
- 2) N1、1st ペプチドを単独免疫した M3R^{-/-}マウスの脾細胞を Rag1^{-/-}マウスに移入し、唾液腺炎の発症を検討した。
- 3) 1) および 2) で T 細胞エピトープであると示唆された N1 および 1st ペプチドの APL を各々作製し、準至適濃度下で CD11c⁺、CD4⁺細胞と共培養した。培養上清中のサイトカイン産生を測定した。
- 4) 3) で抑制性 APL の候補として挙げた 1st-APL および N1-APL を MIS に投与し、唾液腺炎への影響を評価した。
- 5) 唾液腺炎の発症を抑制した N1-APL7 投与群における頸部リンパ節中の CD4⁺細胞を単離し、発現上昇分子を探索した。
- 6) N1-APL7 投与群における頸部リンパ節を単離し、M3R 混合ペプチド培養下で exogenous IL-2 を加え、細胞増殖能を検討した。
- 7) アナジー関連分子の発現を N1-APL7 と CD11c⁺、CD4⁺細胞との共培養下で検討した。

結果：

- 1) N1、1st ペプチドに対する M3R 反応性 T 細胞からの IFN- γ 、IL-17 の有意に

高い産生が認められた。

2) N1、1st ペプチドを単独免疫した M3R⁺マウスの脾細胞を移入した Rag1⁺マウスで、唾液腺炎の発症が確認された。

3) N1 で 7 種類(N1-APL1-7)、1st で 8 種類(1st-APL1-8)の APL を作製した。N1-APL5、6、7 との共培養で IFN- γ 産生が有意に抑制された。また、1st-APL8 で IL-17 産生が有意に抑制された。

4) N1-APL7 投与で唾液腺炎の発症が有意に抑制された。

5) N1-APL7 投与群の頸部リンパ節中 CD4⁺細胞は PBS 投与群と比較して有意に Early Growth Response 2 (Egr-2)の発現が高かった。

6) N1-APL7 投与群の頸部リンパ節は exogenous IL-2 の添加により M3R 混合ペプチド培養下での細胞増殖が促進された。

7) Itch, Cbl-b, Grail といったアナジー関連分子の発現が上昇した。

結論：

In vitro で選定された抑制性 APL の 1 つである N1-APL7 は *in vivo* でも MIS の病態発症を有意に抑制した。T 細胞のアナジー誘導が抑制機序の可能性として挙げられた。

考察：

本研究内容は、SS という根治的治療薬に乏しい自己免疫疾患の治療薬開発の一助として有用であるのみならず、TCR 親和性の違いが抗原特異的 T 細胞に与える影響を解析するうえでも重要な成果と考える。今後、TCR 親和性が T 細胞に与える影響を詳細に解析することで、抗原特異的治療法の開発の一助になると期待する。