

Rola czynnika transkrypcyjnego Aire w różnicowaniu autoreaktywnych i regulatorowych limfocytów T CD4⁺

Czynnik transkrypcyjny AIRE koduje antygeny tkankowo-specyficzne, które prezentowane są dojrzewającym tymocytom podczas ich edukacji grasiczej. Zaburzona ekspresja AIRE prowadzi do szeregu niedoborów immunologicznych objawiających się indukcją autoreaktywnych limfocytów T, naciekami limfocytarnymi do wielu tkanek, np. wątroby czy prostaty, co powoduje stany zapalne, ekspresją auto-przeciwciał oraz zaburzeniem płodności. W celu badań nad ludzkimi chorobami APECED oraz APS1 wynikającymi z zaburzonej ekspresji AIRE, stworzono szereg modeli mysich, z których jeden wykorzystano w niniejszej rozprawie.

Założeniem pracy było pokazanie wpływu zaburzonej ekspresji AIRE na rozwój i funkcję limfocytów pomocniczych CD4⁺, włączając w to limfocyty regulatorowe (Treg) CD4⁺Foxp3⁺. W tym celu skrzyżowano mysz z mutacją w genie *Aire* (*Aire*^{ko}) z myszą TCR^{mini} posiadającą ograniczony repertuar TCR oraz myszami reporterowymi Foxp3^{hCD2} (hCD2 znakuje limfocyty Treg) oraz Nur77GFP (poziom ekspresji GFP odpowiada aktywacji limfocyta T w odpowiedzi na antygen), uzyskując model myszy *Aire*^{ko}TCR^{mini}Foxp3^{hCD2}Nur77GFP. Komórki te badano w grasicy, węzłach chłonnych, wątrobie, prostatie i jelicie grubym. W badaniach wykorzystano szereg technik, włączając w to cytometrię przepływową, sekwencjonowanie wysokoprzepustowe i produkcję hybrydom z limfocytów CD4⁺.

Niniejsze badania potwierdziły wiele doniesień naukowych (m.in. obecność autoreaktywnych immunoglobulin w surowicy myszy *Aire*^{ko}, zaburzenia w ekspresji wielu cytokin, nacieki limfocytarne do wielu narządów (przede wszystkim do wątroby)). W toku badań ustalono, iż zmiany w repertuarze receptorów limfocytów T w grasicy nie są specyficzne dla receptorów dominujących w limfocytach T CD4⁺ zarówno w populacji Foxp3⁺ jak i Foxp3⁻. Analizując sekwencje TCR w narządach nielimfoidalnych wytypowano potencjalnie autoreaktywne klonalności tkankowo-specyficzne. Obecność zmian w repertuarze TCR wynikających z mutacji w genie *Aire* skutkowało zwiększonym powinowactwem do własnych antygenów gospodarza, naciekami limfocytarnymi i podwyższoną aktywacją i proliferacją limfocytów CD4⁺. Pokazano, że zaburzenia w prezentacji antygenów w rozwoju grasiczym skutkują zmniejszoną funkcją limfocytów Treg, badaną pod kątem ekspresji antygenów PD1 oraz CD73. Skutkowało to

zmniejszoną kontrolą autoreaktywnych limfocytów efektorowych CD4⁺Foxp3⁻ oraz infiltracją wielu organów. W głównej mierze atak tych komórek skierowany był przeciwko antygenom wątrobowym. Potwierdzono to zwiększoną aktywacją (mierzoną za pomocą CD44, CD62L oraz Nur77GFP), a także obecnością limfocytów CD4⁺ ekspresjonujących TCR rozpoznające antygeny wątrobowe, ale również autoreaktywnych, co pokazano z wykorzystaniem hybrydom. Dalsze badanie specyficzności reakcji autoimmunologicznej w tym modelu będzie prowadzone z wykorzystaniem myszy CNS^{mut}, w której efekt wynikający ze zwiększonej obecności komórek zaktywowanych nie będzie hamowany obecnością komórek pTreg.

Podsumowując, wykorzystanie nowego modelu mysiego Aire^{ko}TCR^{mini}Foxp3^{hCD2}Nur77GFP pozwoliło na ustalenie zmian w repertuarze TCR limfocytów T efektorowych i regulatorowych oraz ustalenie wpływu zaburzenia prezentacji własnych antygenów gospodarza kodowanych przez AIRE na rozwój choroby autoimmunologicznej manifestującej się zapaleniem prostaty i wątroby.