

様式第 1 号

論文内容要旨

T cell receptor repertoire analysis of CD4-positive T cells from blood and an affected organ in an autoimmune mouse model

学位申請者氏名：石川 龍也
研究指導教員：秋山 泰身

1. 序

リンパ球の一種である T 細胞は、多種多様な病原体由来の抗原を認識し、それら病原体に感染された細胞を排除することで、強固な免疫応答の成立に寄与する。T 細胞の抗原認識は、細胞表面に様々な抗原を認識することができる多様性に富んだ T 細胞受容体 (TCR) の“レパートリー”を持つことに起因する。TCR の種類は 10^{15} 以上におよぶと言われており、理論上あらゆる抗原の認識が可能である。TCR は α/β あるいは γ/δ 複合体の 2 つのタンパク質鎖から構成されている。TCR の多様性は、TCR 遺伝子座で起こる V, D, および J 遺伝子セグメントのランダムな組換えに由来する。また、多様性をさらに高めるため、組換えが起きた後の各遺伝子セグメントの接合部位では、塩基配列がランダムに欠損 (P-ヌクレオチド)、および付加 (N-ヌクレオチド) されることが知られており、これらの現象は Artemis および terminal deoxynucleotidyl transferase 酵素によってそれぞれ促進される。このようなランダムな塩基配列変異がおこる TCR 領域は complementarity determining region 3 (CDR3) と呼ばれ、TCR の多様性の大部分を占めている。TCR が抗原提示受容体 MHC を介して抗原提示細胞から提示された抗原と接触し、抗原特異的な適応免疫応答を可能にするのは、この超可変 CDR3 である。

近年の次世代シーケンス技術*の発展により、生理的および病的条件下における TCR の配列群 (TCR レパートリー) を網羅的に検出することが容易になった。TCR レパートリーは疾患の進行に伴い組成が変化することが知られているため、TCR が疾患の進行を反映する指標、つまりバイオマーカーとしての可能性を、これまで世界中複数の研究チームが検証して来た (Liu et al., 2019; Moore et al., 2020; Ye et al., 2020)。特に自己免疫疾患*は、症状が患者ごとに大きく異なるなど、極めて複雑な病態を示すことから、個別化診断手法の開発が喫緊の課題である。例えば、全身性エリテマトーデスは、関節、皮膚、腎臓、心臓、造血系、神経系など様々な臓器に影響を及ぼすことが知られているが、その臓器病変は患者によって異なる。このような個人差は、自己免疫性多発性内分泌疾患 (APECED) 患者にも認められる。APECED は胸腺において、胸腺上皮細胞が自己応答性 T 細胞を排除する際に T 細胞に提示する自己抗原の発現誘導に必須な AIRE 因子の変異に起因する (Anderson et al., 2002)。主に内分泌系の臓器に炎症が見られるが、臓器によってその頻度は患者ごとに異なる。例えば、甲状腺とすい臓は全体のうち約 2-12% の患者でしか症状はみられない (Betterle, Greggio, & Volpato, 1998; Perheentupa, 1996)。

本研究では、APECED のマウスモデルである AIRE 欠損マウス (AIRE KO) を用いて、自己免疫疾患の症状の重症度が、特定の TCR レパートリーの発現と相

関するかを検証した。TCR レパートリーが自己免疫疾患の個体差を反映するかを検証することで、バイオマーカーとして機能しうるかを調べた。具体的には、AIRE KO マウスおよび野生型マウス (AIRE WT) 由来の血液と胃から T 細胞を抽出し、TCR α と β 鎖の TCR シーケンスを行うことで、血液と胃の両方で検出された TCR レパートリーが、胃の自己免疫症状の重症度と相関するかを評価した (図 1)。

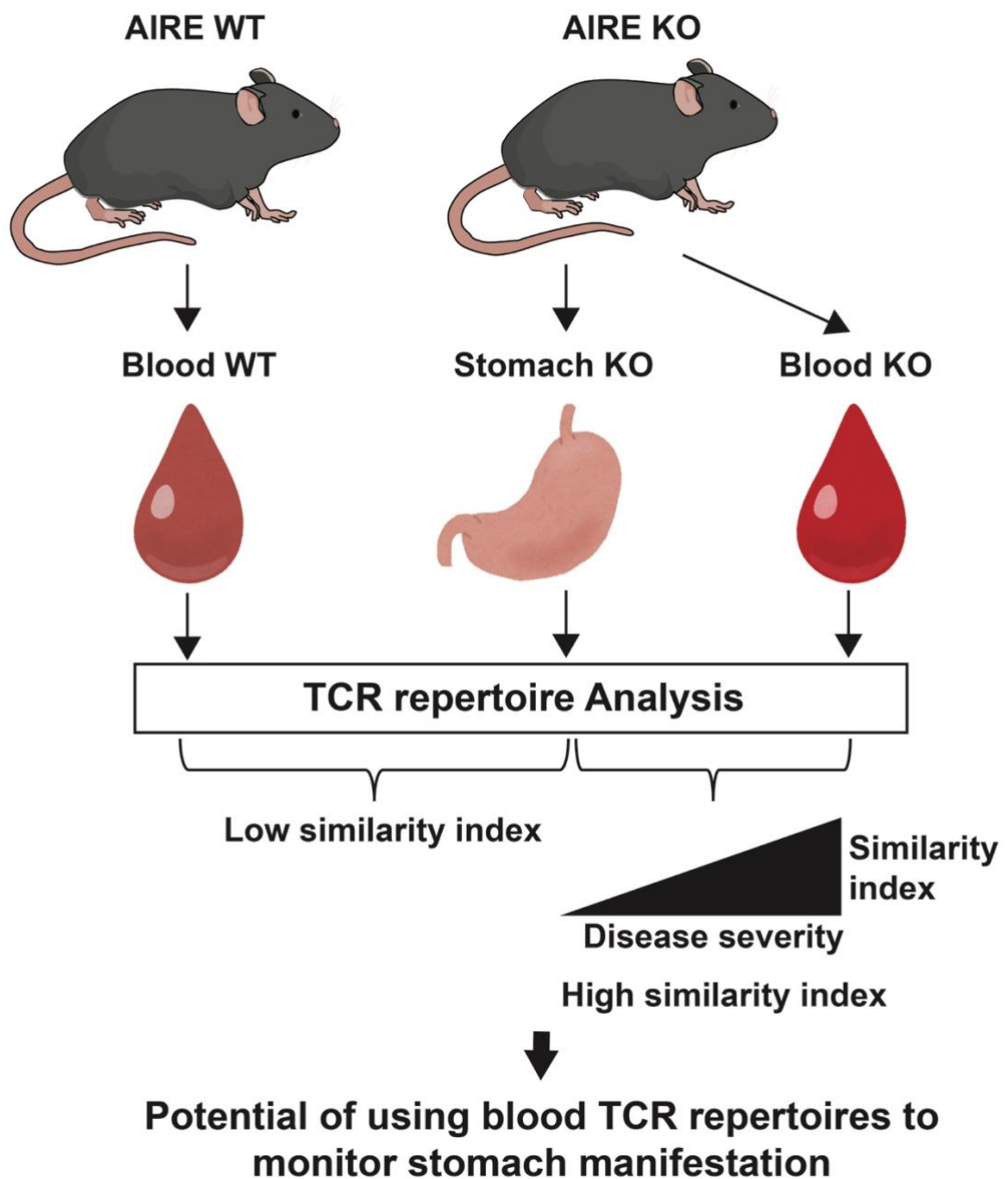


图 1 : 研究目的

2. 実験方法

動物実験

本実験では同腹の雌マウスのみを使用した。AIRE KO マウス (RBC03515: B6.Cg-Aire^{tm2Mmat}/Rbr) は理研 BRC から入手した。B6.129S7-Rag1^{tm1Mom}/J (Rag1^{-/-}) マウスは Jackson Laboratory から購入した。動物実験を実施する際は、理化学研究所横浜支部の施設動物取扱委員会のガイドライン (2018-075) を遵守した。

フローサイトメトリー

30 週齢以上のマウス由来の血と胃を解析した。マウスから胃を採取した後直ちに RPMI 培地で洗浄した。その後、1.0mg/mL コラゲナーゼで組織を 37°C で分解し、細胞を含む上清を 40 μ m のフィルターに通した。血液は採取した後、100 μ L あたり 2mL 赤血球溶解バッファーを加え、10-15 分間インキュベートした。TCR β 、CD4、CD8、CD44、CD62L に対する抗体を用いて、フローサイトメーターによる解析と T 細胞のソーティングを行った。Fc 受容体に対するブロッキング抗体を用いて、非特異的な抗体染色を防いだ。死細胞はアミノアクチノマイシン D により染色し、除外した。

TCR ライブラリ作成・次世代シーケンス

RNA は RNeasy Micro Kit (QIAGEN) を用いて精製した。RIN 値が 8 以上のサンプルを TCR レパートリー解析に使用した (WT マウスは 7 個、KO マウスは 6 個)。SMARTer Mouse TCR a/b Profiling Kit を用いて、RNA から TCR の cDNA を調整した。細胞数の違いを考慮するため、RNA 量を正規化した。Miseq のペアエンドシーケンスを用いてシーケンスを行った。

TCR データ解析

MiTCR ソフトウェアによりシーケンスデータのマッピングを行った (Bolotin et al., 2013)。その後、VDJtools を用いて TCR の多様性、クローン度、CDR3 領域の長さなどの解析を行った (Shugay et al., 2015)。Jaccard index は共通の TCR の数を全体の TCR の数で割った値である。TCR 配列のクラスタリングは、python パッケージの tcrdist3 により配列の類似度を定量化し (Dash et al., 2017)、R パッケージの stats の hclust 関数により系統樹を作成した。

免疫染色

Rag1^{-/-} の凍結組織はクリオスタットで切開し、アセトンで十分固定した。PBS で洗浄した後、10% normal goat serum を添加することでブロッキングを行った。その後、血清を添加し、Alexa-488 色素が付いた二次抗体を添加することで、血清に含まれる自己抗体の量を評価した。画像はすべて SP8 共焦点顕微鏡を用いて撮影した。

3. 研究成果

3.1 AIRE KO マウスの自己免疫表現型の個体差検討

本研究の目的は、マウスモデルを用いて自己免疫疾患症状の重症度と相関して検出される TCR 配列郡を同定することである。自己免疫疾患のモデルとして、AIRE KO マウスの胃に着目した理由は以下の通りである:1)胃は TCR シーケンスを行うのに十分な数の T 細胞を採取可能であり、2)胃の自己免疫は AIRE KO マウスの個体間で不均一な症状を示すことが報告されている(Anderson et al., 2002; Ramsey et al., 2002)。

まず、AIRE KO マウスの胃における自己免疫表現型の個体間の不均一性を評価した。約 30 週齢 AIRE KO マウスと同腹野生型マウスを対称群として胃の炎症を評価した。フローサイトメトリー解析の結果、AIRE KO マウスでは CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞のうち、CD44^{hi}CD62L^{lo} 活性化エフェクターメモリー T 細胞*(Teffs)の割合と細胞数はコントロールと比較して有意に増加しており、T 細胞浸潤を伴う胃の炎症が見られた(図 1a, b)。

次に、AIRE KO マウスの胃組織に対する自己抗体の産生を評価するために、RAG1 因子の欠損により抗体を産生できない RAG1 欠損マウス(RAG1^{-/-})の胃切片に対する免疫染色を、AIRE KO マウスの血清を用いて行った。蛍光シグナルを定量化した結果、胃に対する自己抗体値は、AIRE KO のマウスの血清で有意に高いことが示され、先行研究と一致した結果となった(図 1c)。重要なことに、CD4⁺ Teffs の細胞数と血清に含まれる胃に対する自己抗体化の標準偏差は、AIRE KO マウスで著しく高いことが分かった(図 1c)。したがって、胃浸潤 T 細胞数と抗胃抗体値は AIRE KO マウスにおいて個体差が大きいことが判明した。これらの結果から、本研究で使用した AIRE KO マウスの系統では、胃の症状に大きな個体差があることが確認された。

3.2 AIRE KO マウス由来の血中 T 細胞数と多様性は疾患の重症度と相関しない

実際に TCR シーケンスを行う前に、血中 T 細胞数が AIRE KO マウスにおける自己免疫の発症を反映しているかどうかを調べた。具体的には、フローサイトメトリーを用いて AIRE KO マウスと AIRE WT マウスの血液中の CD4⁺ および CD8⁺ Teffs を検出した。その結果、AIRE KO マウスと AIRE WT マウスでは、CD4⁺ Teffs と CD8⁺ Teffs の割合と細胞数は同程度であった(図 2a,b)。したがって、血中の Teffs の細胞数は AIRE KO マウスにおける自己免疫の発症を反映しないことが分かった。

さらに、血中および胃から CD4⁺ Teffs を単離し、TCR シーケンス解析を行うためのライブラリー調製を行った。AIRE WT (Blood WT) と AIRE KO (Blood KO) の血液から約 5000~15000 個の CD4⁺ Teffs を、フローサイトメトリーを用いたセルソーティングにより単離した。同様に、AIRE KO マウスの胃臓器

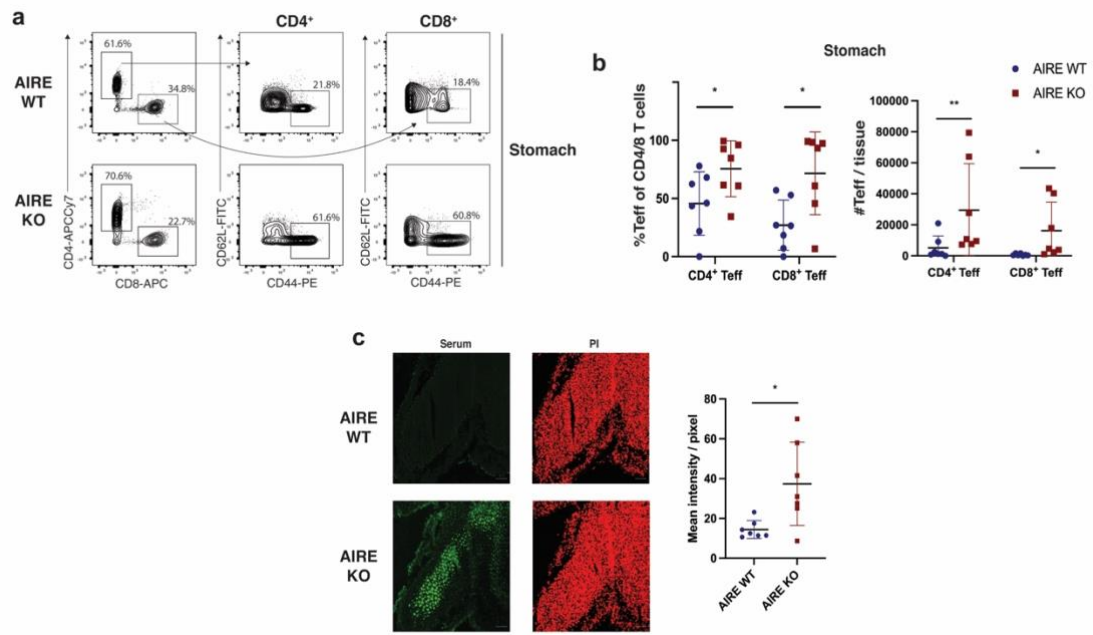


図1 : AIRE KO マウスの自己免疫表現型の個体差検討

(Stomach KO) に含まれる 2000~40000 個全ての CD4⁺ T effs (Stomach T effs) を単離し解析を行った。AIRE WT マウスの胃由来の CD4⁺ T effs は採取できる細胞数が少なすぎるため、解析を見送った。単離された CD4⁺ T effs のうち、6 匹の AIRE KO マウス (#1-6) と 7 匹の AIRE WT マウス (#7-13) から、TCR シーケンス解析に十分な品質の RNA を調製することができた。重要なことに、胃の CD4⁺ T effs 数と血中の自己抗体価を反映する胃の免疫染色の蛍光強度との間に弱い相関が見られた(図 2d)。一方、血中 CD4⁺ T effs 数、または CD8⁺ T effs 数と胃の免疫染色の蛍光強度との間には相関がなかった(図 2c)。

次に、CD4⁺ T effs の TCR α と β 鎖のシーケンス解析を行った。cDNA ライブラリー調製の際に、個体間の細胞数の違いを考慮するため、各サンプルから抽出した RNA 量を正規化した。TCR の多様性を評価するため、ユニークな TCR の数(diversity)と増えた TCR の数を示す Shannon-entropy (clonality)を算出した。その結果、Blood WT、Blood KO、Stomach KO の diversity は TCR α と β で同程度だった(図 2e)。一方、TCR α の clonality は Stomach KO で有意に増加したが、TCR β の clonality は全群で同程度であった(図 2e)。Clonality と同様に、TCR の超可変領域である CDR3 領域の長さは、TCR α は Stomach KO で有意に減少し、TCR β は全群で同程度であった(図 2f)。Blood KO の diversity と clonality は Stomach KO の多様性を反映していないため、これらの結果から AIRE KO の血中 T 細胞の多様性は疾患の重症度と相関しないことが分かった。

3.3 AIRE KO マウスの血液と胃の TCR レパートリー個体別類似性の評価

TCR α と β 鎖の個々の配列に着目し、同一個体の AIRE KO マウスの血液と胃で共通して検出される TCR が存在するかを検証した。具体的には、血液サンプル(Blood #1-13)と胃サンプル(Stomach #1-6)の間で共通して検出される TCR 配列の割合を、Jaccard 指数*をもとに TCR α と β レパートリーの類似性を評価した。その結果、Jaccard 指数の散布図とヒートマップから、Blood KO は対応する同一個体の Stomach KO と相関していることが示唆された(図 3a,b)。また、同じ AIRE KO マウス由来の血液と胃の Jaccard 指数は、別々のマウス由来の血液と胃の Jaccard 指数よりも、TCR α と β 共通して 4 倍高いことが分かった(図 3c)。したがって、血液中の TCR レパートリーは同じ個体の胃の TCR レパートリーと相関しており、その相関度合いには個体差があることが示された。興味深いことに、同一個体の血液と胃の Jaccard 指数は、胃の症状の重症度を反映する Stomach T eff 数と相関することが判明した(図 3d)。つまり、胃の症状が重篤な AIRE KO マウスでは、血液と胃の TCR レパートリーがより共通している可能性が高い。これらの結果は、AIRE KO マウスの血液と胃に共通する TCR 配列を検出することにより、胃の症状の重症度をモニタリングできる可能性を示唆するものである。

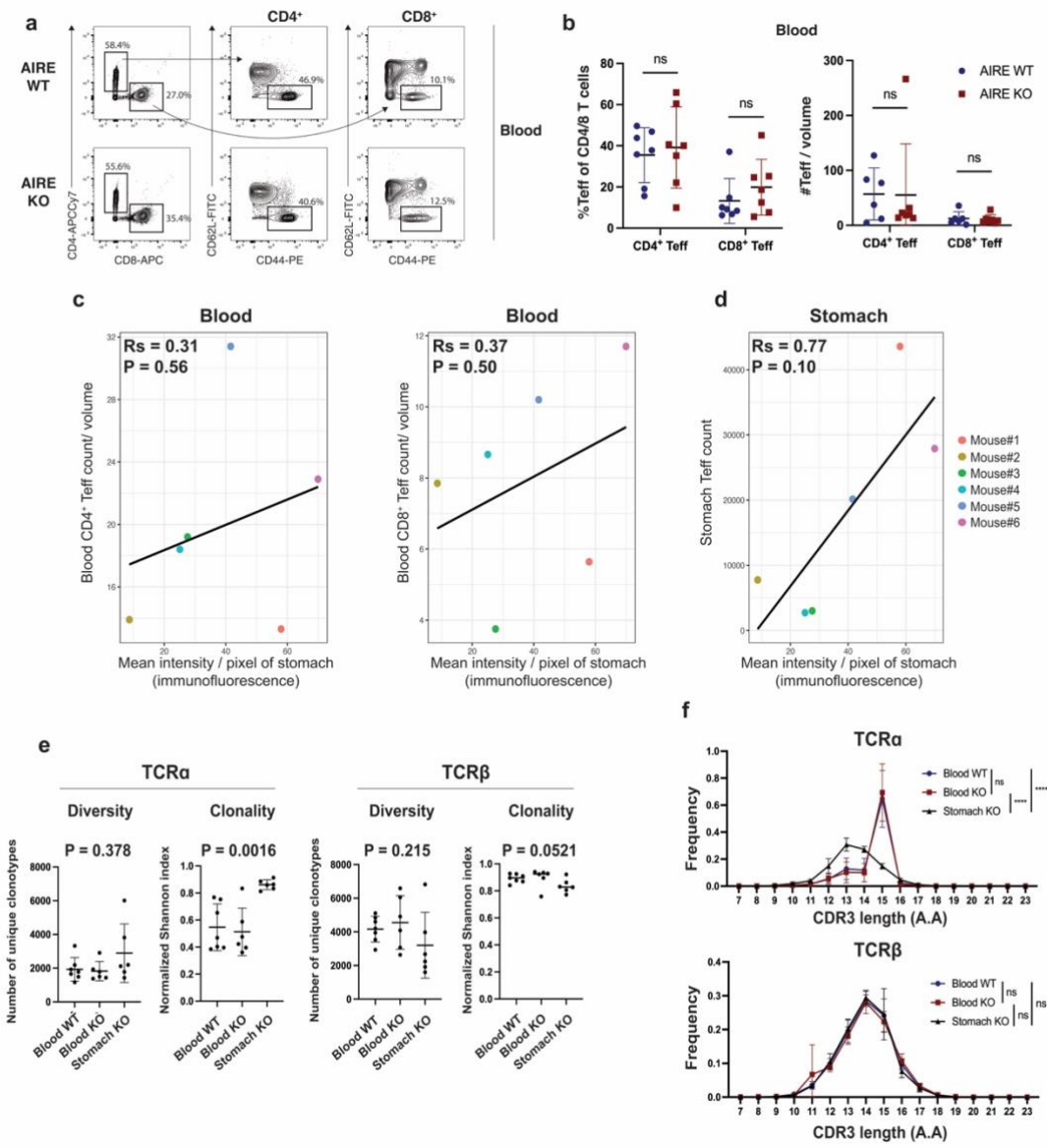


図 2 : AIRE KO マウス由来の血中 T 細胞数と多様性は疾患の重症度と
 相関しない

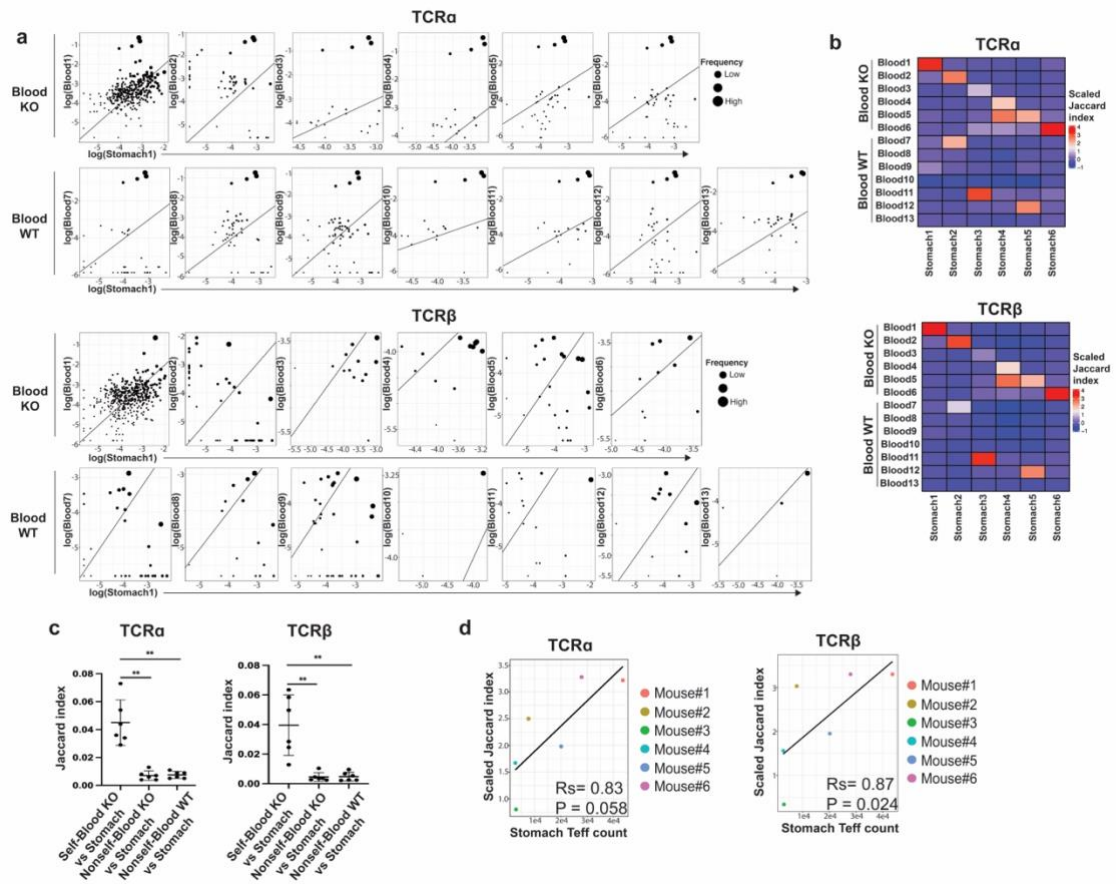


図3：AIRE KO マウスの血液と胃の TCR レパートリー個体別類似性の評価

3.4 AIRE KO マウスの疾患の重症度の指標になりうる候補 TCR 配列の同定

最後に、胃の症状の指標である Stomach Teff 数と相関して検出される TCR レポートリーの同定に試みた。同定された配列は、バイオマーカーとして AIRE KO マウスにおける胃の症状の重症度をモニタリングできる可能性を秘めている。具体的には、以下3つの条件を設けて、バイオマーカーになりうる TCR 配列を探索した：1)同一マウスの Blood KO と Stomach KO の両方で検出された配列、2)少なくとも2匹以上の AIRE KO マウスで検出された配列、3)Blood WT には存在しない配列。次に、tcrdist3 パッケージを用いて、選択された TCR の CDR3 領域の配列情報をもとに TCR レポートリーのクラスタリングを行った (Dash et al., 2017)。その結果、TCR α については4つのクラスター (k-means = 4)、TCR β については3つのクラスター (k-means = 3)に分類された(図 4a,b)。

次に、選択された TCR レポートリーのクラスターのうち、胃の症状の指標である Stomach Teff と相関するクラスターを探索した。その結果、TCR α の Cluster3 に含まれる CDR3 配列、および TCR β の Cluster1 に含まれる CDR3 配列 (以下、それぞれを Cluster3/TCR α および Cluster1/TCR β と呼ぶ) 頻度は、血液と胃の両方で正の相関を示した ($R_s > 0.5$) (図 4c-f)。これらクラスターに含まれる TCR の胃での頻度は、最も重症度の高い2匹のマウス(マウス#1 とマウス#6)をそれ以外のマウスから区別することができたが、血液の頻度ではそのような傾向は見られなかった(図 4c,d)。そこで、Cluster3/TCR α に着目し、Cluster3 を Cluster3.1 と Cluster3.2 の2つのサブクラスターに分類した(図 4g)。その結果 Cluster3.2 の TCR の頻度は、血液($R_s = 0.64$)と胃 ($R_s = 0.64$) の両方で、胃の症状の指標である Stomach Teff 数と比較的高い正の相関が示された(図 4h)。

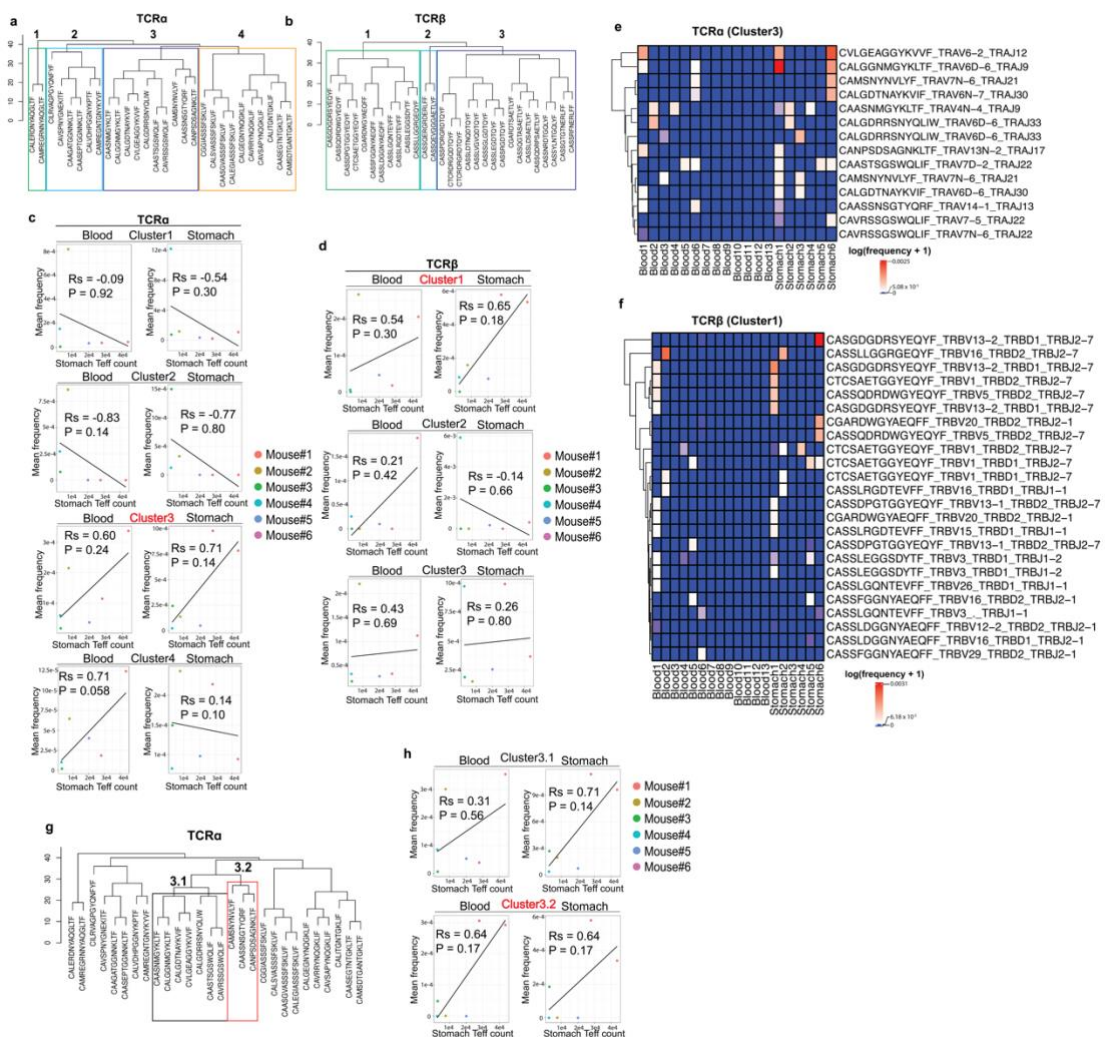


図 4 : AIRE KO マウスの疾患の重症度の指標になりうる候補 TCR 配列の同定

4. 討論

本研究では、自己免疫疾患 APECED のモデルマウスである AIRE KO マウスを用いて、特定の TCR レパートリーが疾患の重症度の指標になりうるか検証した。その結果、TCR α の Cluster3.2 に含まれる TCR レパートリーが、自己免疫疾患の症状が重篤なマウスとそうでないマウスを区別できる可能性があることが示唆された。したがって、本研究は、TCR レパートリーの自己免疫疾患の症状をモニタリングするバイオマーカーとしての可能性を支持する結果となった。しかし、特筆すべき点として、AIRE KO マウスで見られる CD4+ Teffs の細胞数などの個体間のばらつきは、自己免疫とは関係のない、飼育環境や摂取した食べ物などの単純な環境要因である可能性もある。この可能性を排除するには、今後個体数を増やすことで、再現度の高い結果を得る必要があると考える。

これまで、自己免疫疾患における TCR レパートリー解析は、疾患の重症度、いわば個体差のモニタリングでなく、疾患が発症するか否かをモニタリングするために行われて来た (Lu et al., 2022; Mitchell & Michels, 2020; Moore et al., 2020; Ye et al., 2020)。ほとんどの研究は、患者と健常者の単純に比較して、患者でより多く検出されて TCR に着目していた。今回の研究にとどまらず、自己免疫疾患症状の不均一性を、TCR レパートリーを介して解明するためには、さらなる研究が必要となるであろう。

今回の研究で、胃の自己免疫症状の重症度の指標になりうる TCR レパートリーを同定することに成功したが、実際にこれら TCR 配列が胃由来の抗原を認識するかどうかは明らかでない。この問題を解決するには、これら TCR レパートリーの胃抗原に対する特異性を評価する必要がある。残念なことに、既知の TCR 配列とそれが認識する抗原データを集めたデータベース VDJdb には、Cluster3.2 の TCR 配列は含まれていなかった (Shugay et al., 2018)。これまで、AIRE KO マウスにおける自己免疫の発症に関与する自己抗原として MUCIN6 が報告されている (Jiang, Anderson, Bronson, Mathis, & Benoist, 2005)。したがって、同定された TCR レパートリーが MUCIN6 に結合するかを評価する必要がある。しかし、任意の TCR の抗原に対する特異性を評価する既存の実験系は非効率的であるため、実験に時間を要する。そのため、TCR と抗原の結合を、機械学習などを利用して高精度に予測するアルゴリズムの開発が今後必要になると予想される (Hudson, Fernandes, Basham, Ogg, & Koohy, 2023)。

5. まとめ

- 1) AIRE KO マウスの自己免疫表現型は個体ごとにことなる。
- 2) AIRE KO マウス由来の血中 T 細胞数と多様性は疾患の重症度と相関しない。
- 3) 同一個体の AIRE KO マウスの血液と胃の TCR レパートリーは類似している。
- 4) Cluster3.2 に含まれる TCR レパートリーは、AIRE KO マウスの胃における自己免疫症状の重症度の指標になりうる。

6. 論文リスト

1. **Ishikawa, T.**, Horie, K., Takakura, Y., Ohki, H., Maruyama, Y., Hayama, M., Miyauchi, M., Miyao, T., Hagiwara, N., Kobayashi, T. J., Akiyama, N., & Akiyama, T. T-cell receptor repertoire analysis of CD4-positive T cells from blood and an affected organ in an autoimmune mouse model. *Genes to cells*. (2023) – in press
2. Horie, K., Namiki, K., Kinoshita, K., Miyauchi, M., **Ishikawa, T.**, Hayama, M., Maruyama, Y., Hagiwara, N., Miyao, T., Murata, S., Kobayashi, T. J., Akiyama, N., & Akiyama, T. Acute irradiation causes a long-term disturbance in the heterogeneity and gene expression profile of medullary thymic epithelial cells. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1186154. (2023).
3. **Ishikawa, T.**, Ishii, H., Miyao, T., Horie, K., Miyauchi, M., Akiyama, N., Akiyama, T; Sample preparation and integrative data analysis of a droplet-based single-cell ATAC-sequencing using murine thymic epithelial cells. *Bio-protocol*, *13*(1), e4588. (2022).
4. Miyao, T., Miyauchi, M., Kelly, S. T., Terooatea, T. W., **Ishikawa, T.**, Oh, E., Hirai, S., Horie, K., Takakura, Y., Ohki, H., Hayama, M., Maruyama, Y., Seki, T., Ishii, H., Yabukami, H., Yoshida, M., Inoue, A., Sakaue-Sawano, A., Miyawaki, A., Muratani, M., ... Akiyama, T; Integrative analysis of scRNA-seq and scATAC-seq revealed transit-amplifying thymic epithelial cells expressing autoimmune regulator. *eLife* 11, e73998 (2022).
5. Wang, M., **Ishikawa, T.**, Lai, Y., Nallapothula, D., & Singh, R. R; Diverse Roles of NETosis in the Pathogenesis of Lupus. *Frontiers in immunology* 13, 895216 (2022).
6. **Ishikawa, T.**, Akiyama, N., & Akiyama, T; In Pursuit of Adult Progenitors of Thymic Epithelial Cells. *Frontiers in immunology* 12, 621824 (2021).

7. Horie, K., Kato, T., Kudo, T., Sasanuma, H., Miyauchi, M., Akiyama, N., Miyao, T., Seki, T., **Ishikawa, T.**, Takakura, Y., Shirakawa, M., Shiba, D., Hamada, M., Jeon, H., Yoshida, N., Inoue, J. I., Muratani, M., Takahashi, S., Ohno, H., & Akiyama, T; Impact of spaceflight on the murine thymus and mitigation by exposure to artificial gravity during spaceflight. *Scientific reports* 9(1), 19866 (2019).
8. Yu, S., Wu, M., Zhou, G., **Ishikawa, T.**, Liang, J., Nallapothula, D., Singh, R. R., Wang, Q., & Wang, M; Potential utility of anti-TNF drugs in synovial chondromatosis associated with ankylosing spondylitis. *International journal of rheumatic diseases* 22(11), 2073–2079 (2019).
9. Halder, R. C., Tran, C., Prasad, P., Wang, J., Nallapothula, D., **Ishikawa, T.**, Wang, M., Zajonc, D. M., & Singh, R. R; Self-glycerophospholipids activate murine phospholipid-reactive T cells and inhibit iNKT cell activation by competing with ligands for CD1d loading. *European journal of immunology* 49(2), 242–254 (2019).

7. 参考文献

- Anderson, M. S., Venanzi, E. S., Klein, L., Chen, Z., Berzins, S. P., Turley, S. J., . . . Mathis, D. (2002). Projection of an immunological self shadow within the thymus by the Aire protein. *Science*, *298*(5597), 1395-1401. doi:10.1126/science.1075958
- Betterle, C., Greggio, N. A., & Volpato, M. (1998). Clinical review 93: Autoimmune polyglandular syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab*, *83*(4), 1049-1055. doi:10.1210/jcem.83.4.4682
- Bolotin, D. A., Shugay, M., Mamedov, I. Z., Putintseva, E. V., Turchaninova, M. A., Zvyagin, I. V., . . . Chudakov, D. M. (2013). MiTCR: software for T-cell receptor sequencing data analysis. *Nat Methods*, *10*(9), 813-814. doi:10.1038/nmeth.2555
- Dash, P., Fiore-Gartland, A. J., Hertz, T., Wang, G. C., Sharma, S., Souquette, A., . . . Thomas, P. G. (2017). Quantifiable predictive features define epitope-specific T cell receptor repertoires. *Nature*, *547*(7661), 89-93. doi:10.1038/nature22383
- Hudson, D., Fernandes, R. A., Basham, M., Ogg, G., & Koohy, H. (2023). Can we predict T cell specificity with digital biology and machine learning? *Nat Rev Immunol*, 1-11. doi:10.1038/s41577-023-00835-3
- Jiang, W., Anderson, M. S., Bronson, R., Mathis, D., & Benoist, C. (2005). Modifier loci condition autoimmunity provoked by Aire deficiency. *J Exp Med*, *202*(6), 805-815. doi:10.1084/jem.20050693
- Liu, X., Zhang, W., Zhao, M., Fu, L., Liu, L., Wu, J., . . . Lu, Q. (2019). T cell receptor β repertoires as novel diagnostic markers for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, *78*(8), 1070-1078. doi:10.1136/annrheumdis-2019-215442
- Lu, C., Pi, X., Xu, W., Qing, P., Tang, H., Li, Y., . . . Liu, Y. (2022). Clinical significance of T cell receptor repertoire in primary Sjogren's syndrome. *EBioMedicine*, *84*, 104252. doi:10.1016/j.ebiom.2022.104252
- Mitchell, A. M., & Michels, A. W. (2020). T cell receptor sequencing in autoimmunity. *J Life Sci (Westlake Village)*, *2*(4), 38-58. doi:10.36069/jols/20201203
- Moore, E., Huang, M. W., Jain, S., Chalmers, S. A., Macian, F., & Putterman, C. (2020). The T Cell Receptor Repertoire in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*, *11*, 1476. doi:10.3389/fimmu.2020.01476
- Perheentupa, J. (1996). Autoimmune polyendocrinopathy--candidiasis--ectodermal dystrophy (APECED). *Horm Metab Res*, *28*(7), 353-356. doi:10.1055/s-2007-979814
- Ramsey, C., Winqvist, O., Puhakka, L., Halonen, M., Moro, A., Kämpe, O., . . . Peltonen, L. (2002). Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum Mol Genet*, *11*(4), 397-409.

doi:10.1093/hmg/11.4.397

- Shugay, M., Bagaev, D. V., Turchaninova, M. A., Bolotin, D. A., Britanova, O. V., Putintseva, E. V., . . . Chudakov, D. M. (2015). VDJtools: Unifying Post-analysis of T Cell Receptor Repertoires. *PLoS Comput Biol*, *11*(11), e1004503. doi:10.1371/journal.pcbi.1004503
- Shugay, M., Bagaev, D. V., Zvyagin, I. V., Vroomans, R. M., Crawford, J. C., Dolton, G., . . . Chudakov, D. M. (2018). VDJdb: a curated database of T-cell receptor sequences with known antigen specificity. *Nucleic Acids Res*, *46*(D1), D419-d427. doi:10.1093/nar/gkx760
- Ye, X., Wang, Z., Ye, Q., Zhang, J., Huang, P., Song, J., . . . Wang, K. (2020). High-Throughput Sequencing-Based Analysis of T Cell Repertoire in Lupus Nephritis. *Front Immunol*, *11*, 1618. doi:10.3389/fimmu.2020.01618

8. 用語集

自己免疫疾患 – 免疫細胞が自己の組織を誤って攻撃することで発症する炎症性疾患である。

次世代シーケンス – DNA バーコーディング技術を応用した、数千もの DNA を同時に網羅的に配列決定する技術である。

活性化エフェクターメモリーT細胞 – 抗原の暴露により活性化し、抗原が排除された後も一定の期間体内に生存することで、抗原に対する応答を「記憶」することができる T 細胞である。

Jaccard 指数 – 集合の類似度を示す値であり、二つの集合に含まれる共通の要素が占める割合を示す。