

課題番号 67

加齢による記憶 T 細胞の蓄積と慢性炎症性皮膚疾患の解析

[1] 組織

代表者：北野 拓真
(名古屋市立大学薬学研究科)

対応者：小笠原 康悦
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：肥田 重明 (名古屋市立大学)
石川 怜 (名古屋市立大学)

研究費：物件費 10 万円

[2] 研究経過

近年、公衆衛生的な重要な課題の1つとして、超高齢化社会に伴う、がん、メタボリックシンドロームなどの慢性炎症性疾患の治療と予防は我が国の重要な課題である。加齢という観点からも炎症に関与する免疫応答を理解し、慢性疾患の予防・治療への応用する必要がある。これまで加齢に伴う免疫制御機構の分子機構についてはほとんど明らかになっていない。そのため、自発性慢性炎症のモデル動物の病態解析や新規治療法の開発は、近年ますますその重要性を増している。本共同研究では、免疫応答で重要な役割を果たす T 細胞と皮膚組織や所属リンパ節に存在する自然免疫細胞に着目して、加齢に伴う炎症性疾患への影響とその分子機構を明らかにする。

IFN 制御因子 (IFN regulatory factor, IRF) の欠損マウスでは、約 10 週齢から脱毛、20 週齢で潰瘍ができるなど、加齢に伴い炎症性皮膚炎が発症し、慢性炎症の病態を呈する。申請者らのグループは、これまでに、このモデルマウスを用いてサイトカインの観点から皮膚炎症の研究を進めてきた (Hida et al. *Immunity* 2000)。しかしながら、この IFN 制御因子は、全身で発現しているにもかかわらず、皮膚特異性の炎症を発症する。このことから皮膚特異的な抗原認識が重要であることが予想されるが、詳細な分子機構は明らかになっていない。IFN システムに重要な転写因子 IRF-2 が生体の様々な炎症恒常性維持に重要な役割を果たしていることに注目し、I 型 IFN システムの破綻が T 細胞依存的な炎症性皮膚を発症させることを明らかにした。現在、皮膚炎発症の詳細な免疫分子機序を明らかにするために、免疫細胞で重要な役割

を果たす種々の免疫細胞・受容体および転写因子の関与について、二重、三重遺伝子改変マウスを作成し、皮膚炎症の発症と進行について解析する計画を立てた。

以下、研究活動状況の概要を示す。

本年度は、e-mail や電話、web ミーティングを活用して、2 か月に 1 度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。

Irf2^{-/-}マウスの皮膚炎発症には、CD8⁺T 細胞が重要な役割を果たすことをすでに報告している (Hida et al. *Immunity* 2000)。そこで T 細胞に着目して、共同研究先である貴学東北大学加齢医学研究所 (小笠原康悦教授) と協力して、さらに詳細な T 細胞の受容体の解析を進めることにした (実験 1)。

T 細胞受容体解析の実験の流れを図 1 で示す。

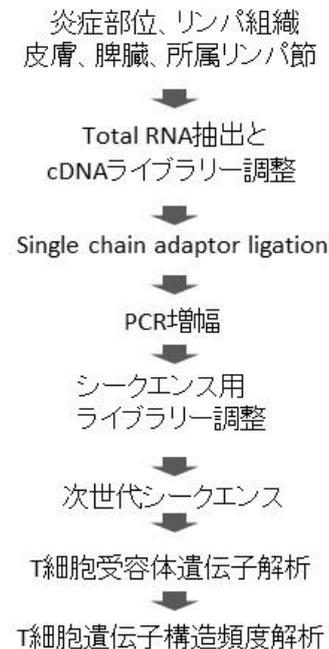


図1 T細胞受容体解析実験の流れ

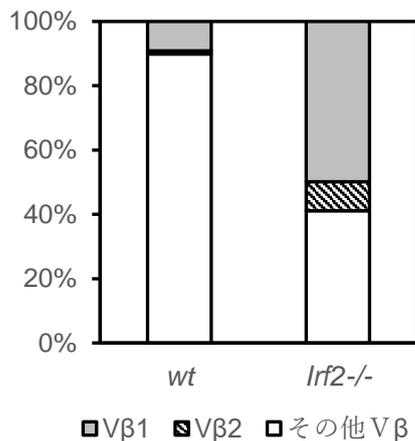
[3] 成果

(3-1) 研究成果

皮膚特異性を決めている分子機構やT細胞の受容体の解析

経時的に皮膚組織を採取して、組織から total RNA を回収した。その後、通法により cDNA を合成して cDNA ライブラリーを作成した。共同研究者の小笠原らが開発した遺伝子特異的非バイアス増幅法 (WO2016136716) を用いて T 細胞受容体 (TCR) を非バイアスで増幅して、次世代シーケンサーにより塩基配列を決定した。まず、野生型マウスにおいては、T 細胞受容体解析において、通常観察される T 細胞受容体 V β 1 鎖 (V β 1) や V β 2 は 10% 以下という受容体レパートリーの比率が観察された。他の V β 鎖も同様であった (未発表データ)。一方、*lrf2*^{-/-} 遺伝子欠損マウスを用いた解析では、T 細胞受容体にある一定の偏りがみられ、V β を持つ特異的 T 細胞受容体が高頻度 (約 50%) に存在している可能性が示された (図 2)。同個体の脾臓では、このような結果を認められなかった。ことから、皮膚組織特異的な T 細胞が増えている可能性がある。しかしながら、個々のマウスにおける結果は得られたものの、サンプル数の不足のため、一般論へ展開できる結果はまだ得られていない。今後、サンプル数を増やして解析を進め、統計的に有意差があるか否かをさらに検討する必要がある。

図 2 皮膚の T 細胞に発現する TCRV β 鎖の割合



(3-2) 波及効果と発展性など

これまで自己免疫疾患などの慢性炎症性疾患の発症とその病態の進行に関与する免疫の分子機構はほとんど明らかになっていない。さらに炎症性疾患は遺伝的背景のみならず、常在細菌を含めた様々な環境因子などの相互作用が複雑に影響していると考えられている。そのため、本研究は進行性の T 細胞依存的な慢性炎症の経時的な観察ができることに大きな意味

をもつ。

本共同研究は、学外研究者との相互交流によって、飛躍的に活性化することができた。また、本共同研究で明らかになった皮膚発症に関与する特異的 T 細胞の存在を明らかにした研究成果は、慢性炎症性疾患の治療への応用という研究領域への発展が期待される。さらに、共同研究を進め、大型研究費獲得に向けて努力していきたい。

[4] 成果資料

Staphylococcal γ -hemolysins induce IL-4 production in murine basophils.; Ogata A, Hayashi K, Kitano T, Onozaki K, Itoh S, Hida S., *Biochem Biophys Res Commun.* 632:107-112 (2022).