

令和 3 年 4 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08291

研究課題名(和文)皮膚免疫の加齢変化における皮膚resident memory T細胞の役割の検討

研究課題名(英文)The role of skin resident memory T cells in the aging alteration of skin immunity

研究代表者

細川 玲(渡辺玲)(Hosokawa, Rei)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：60463866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ヒト皮膚の免疫応答が加齢によってどのように変化するか検証した。様々な年齢層の個体より手術後余剰皮膚検体、血液検体を採取し解析した。皮膚T細胞の多様性が高齢者において、我々の検討系では約2倍保たれやすいことが分かった。また、黄色ブドウ球菌、カンジダといった皮膚感染が生じやすい病原体に対するT細胞応答を比較したところ、高齢者血中T細胞において炎症性サイトカインIL-17の産生が低下したが、皮膚T細胞は加齢によっても抗原応答性IL-17産生を保ち続けていた。従って、ヒト皮膚T細胞は、血中T細胞より長期生存して多様性を維持し、抗原応答能を呈するポテンシャルを保ち続けることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本は未曾有の高齢化社会を迎え、高齢化に伴い生じる重篤な感染症の頻度が上がり、医療資源の圧迫につながっている。本研究で得られた成果から、皮膚T細胞が特に感染症に対する正常な応答を行うポテンシャルを保ち、また、血中T細胞より様々な抗原に応答できる多様性を維持し続けていることが分かり、これらのT細胞の正常な機能発揮を促す手法を確立することで、皮膚を介した感染症の予防に役立てることができる他、肺、腸といった他の感染を生じやすい組織にその手法を応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this research, we investigated the aging alteration of human skin T cells. We collected the blood and extra skin specimens from the individuals of various ages. The diversity of skin T cells in the elderly subjects were approximately twice well-maintained compared to that of blood T cells in the elderly, under our experimental procedure. Skin T cells in the elderly subjects also turned out to produce the comparable amount of pro-inflammatory cytokine IL-17 with those from younger subjects in reaction with heat-killed *Staphyrococcus aureus* and *Candida albicans*, while blood T cells reduced the production of IL-17 in reaction with these pathogens according to aging. These results suggest that skin T cells can maintain their diversity and functionality compared to blood T cells in the elderly.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：皮膚resident memory T細胞 加齢

## 1. 研究開始当初の背景

本邦では未曾有の高齢化社会を目前とする中、特定の感染症や腫瘍、臓器特異的自己免疫疾患など、高齢者に頻度の高い疾患も増数し、医療資源の投資が膨らみ社会的問題として認識されている。様々な治療法の開発が進められる中、そもそも疾患に至らないようにする有効な予防策の開発が待たれる状況である。

申請者は、現在まで組織免疫機構、中でもヒト皮膚 resident memory T 細胞 ( $T_{RM}$ ) の機能について様々な皮膚疾患を通して検討を行ってきた。 $T_{RM}$  の機能は多くのマウス実験を通じて証明されてきたが、ヒトとマウスの生存期間や曝露される抗原の量は大きく異なり、マウスでの知見をヒトに応用しにくい問題があった。従って、申請者は、現在の社会的背景を考え、皮膚  $T_{RM}$  の加齢変化を明らかにすることで、皮膚を介した感染症や臓器特異的免疫疾患の予防策としての標的を見つけられないかと考え、本研究を立案した。

## 2. 研究の目的

ヒト皮膚 T 細胞特に皮膚  $T_{RM}$  の加齢による多様性や機能の変化を明らかにする。

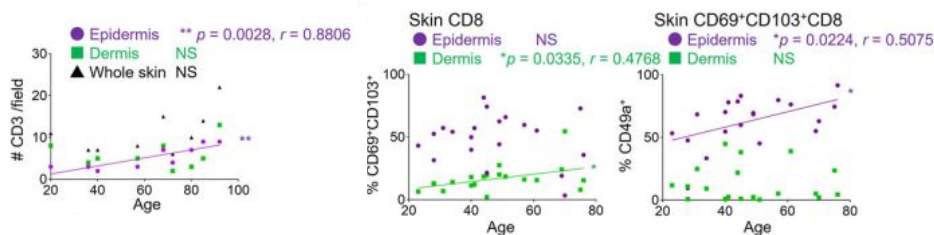
## 3. 研究の方法

皮膚良性腫瘍切除を行う様々な年齢層の個体より、切除後余剰正常皮膚、血液検体を回収し、解析を行った。解析手法として、免疫組織学的染色、flow cytometry、high-throughput RNAseq 解析を用いた。

なお、本研究は、筑波大学附属病院倫理委員会より研究承認を得て行った。また、研究参加者全員より、書面で検体提供の同意を得ている。

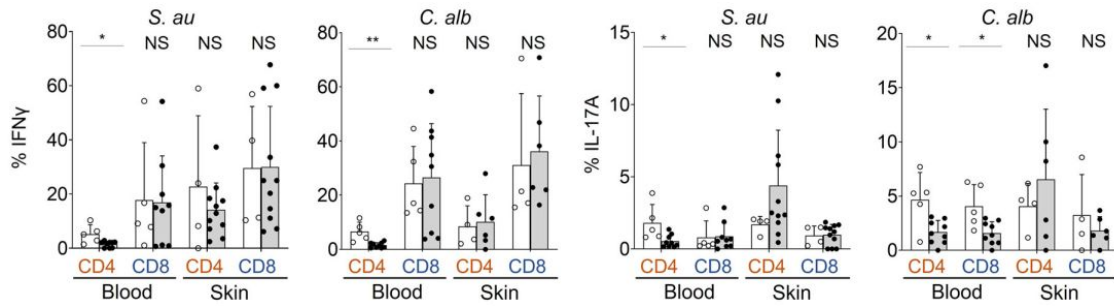
## 4. 研究成果

まず一定面積・量当たりの皮膚 T 細胞数・血中 T 細胞数の加齢変化を確認したところ、皮膚、血液ともに、T 細胞数は減じず、皮膚ではむしろ単位面積当たりの T 細胞数特に CD8 T 細胞数が増加する傾向がみられ、表皮において明らかであった。血中 T 細胞中では、既報告と同様に、naive T 細胞の減数がみられたが、皮膚 T 細胞はすべて memory T 細胞であり、高齢者の皮膚では CD8 T 細胞の割合が高くなること、中でも CD49a 陽性  $T_{RM}$  の割合が加齢に伴って上昇することが分かった。



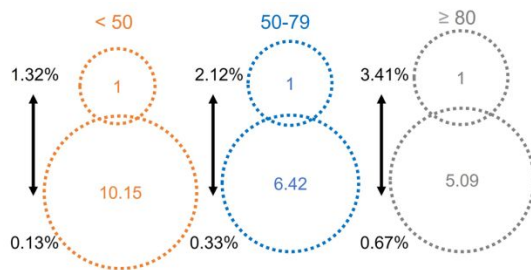
上図左：様々な年齢層の個体から採取した皮膚において、単位面積当たりの表皮、真皮内 T 細胞数を、免疫組織学的染色により検討した。中央・右：皮膚 CD8 T 細胞中の CD69+CD103+  $T_{RM}$  の割合、また、この  $T_{RM}$  中のさらに CD49a 陽性細胞の割合を様々な年齢層で比較した。

次に、採取した皮膚、血液に加熱処理した黄色ブドウ球菌抗原、カンジダ抗原を添加し、皮膚 T 細胞、血中 T 細胞の増殖能、サイトカイン産生能を様々な年齢の検体で検討した。皮膚、血中 T 細胞共に、抗原応答性の増殖能は高齢者において保たれていた。高齢者血中 T 細胞では抗原応答性の IL-17 産生が有意に低下するのに対し、皮膚 T 細胞は高齢者においても IFN  $\gamma$ 、IL-17 産生を CD4、CD8 T 細胞共に若年者と同等に行いということが分かった。



上図左：血液、皮膚を加熱処理黄色ブドウ球菌、加熱処理カンジダとそれぞれ培養し、それぞれの CD4、CD8 T 細胞における IFN 産生（左）、IL-17 産生（右）を 50 歳未満（、白い棒グラフ）と 50 歳以上（、グレーの棒グラフ）の個体に分けて検証した。

皮膚 T 細胞と血中 T 細胞の多様性の加齢変化を確認する目的で、様々な年齢層の皮膚、血液検体から、T 細胞受容体 CDR3 領域の塩基配列を解読する high-throughput RNAseq を行ったところ、高齢者皮膚 T 細胞は、血中 T 細胞より多様性を維持しやすい傾向が分かった。同一個体から採取した皮膚、血液検体で共通する T 細胞受容体の割合から、皮膚 T 細胞の種類数、血中 T 細胞の種類数を相対的に比較したところ、50 歳未満では皮膚 T 細胞種類数と血中 T 細胞種類数の比が約 1:10 であったのに対し、80 歳以上ではその比が約 1:5 であった。つまり、この解析系では、皮膚 T 細胞がおおよそ 2 倍、加齢において多様性を維持しやすいと解釈することができた。



皮膚に含まれる T 細胞の種類数（図：上の点線丸の大きさで相対的に表す）と、血中 T 細胞の種類数（図：下の点線丸の大きさで相対的に表す）の比、各個体で皮膚、血液中に共通する T 細胞型のそれぞれの T 細胞プールにおける割合から算出し、図示した。オレンジ：50 歳未満（6 例の平均）、青：50-79 歳（5 例の平均）、グレー：80 歳以上（5 例の平均）を表す。

以上の結果から、高齢者皮膚 T 細胞が血中 T 細胞と比較して多様性、機能を維持しやすいことが判明した。

今後、これらの結果から発展させ、この皮膚 T 細胞の機能を正常に発揮しやすくする因子を同定し、皮膚を介した感染症や皮膚悪性腫瘍の制御における皮膚 T 細胞の機能向上の視点からの疾患予防法の確立につなげていきたい。また、皮膚のみでなく、消化管、呼吸器など皮膚以外のバリア組織の  $T_{RM}$  にも同様の手法を応用することで、全身の健康長寿を促進できるような疾患予防策に結び付けたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koguchi-Yoshioka Hanako, Hoffer Elena, Cheuk Stanley, Matsumura Yutaka, Vo Sa, Kjellman Petra, Grema Lucian, Ishitsuka Yosuke, Nakamura Yoshiyuki, Okiyama Naoko, Fujisawa Yasuhiro, Fujimoto Manabu, Eidsmo Liv, Clark Rachael A., Watanabe Rei	4. 巻 4
2. 論文標題 Skin T cells maintain their diversity and functionality in the elderly	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 online
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-01551-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hanako Koguchi-Yoshioka, Elena Hoffer, Stanley Cheuk, Yutaka Matsumura, Sa Vo, Yasuhiro Fujisawa, Manabu Fujimoto1, Liv Eidsmo, Rachael A Clark, Rei Watanabe
2. 発表標題 Skin T cells in older individuals remain diverse and highly functional
3. 学会等名 The 49th annual European Society for Dermatological Research meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------