

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：23903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15376

研究課題名(和文) 幼少期の日光浴でその後の人生を健康に一制御性T細胞を介した免疫系制御能力の獲得一

研究課題名(英文) The mechanisms of immune tolerance induced by Ultraviolet B-expanded regulatory T cells in the skin.

研究代表者

小田中 瑞夕(Odanaka, Mizuyu)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：00510281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：紫外線照射は免疫寛容を誘導することが知られている。本研究では、紫外線照射による免疫寛容を誘導する樹状細胞サブセットを同定した。これまで皮膚免疫に重要であると考えられていたのは、表皮に存在するCD11b-typeランゲリン陽性樹状細胞(ランゲルハンス細胞)であった。しかし今回、紫外線照射した皮膚では、CD11b-typeランゲリン陰性樹状細胞によって制御性T細胞が誘導されることがわかった。この樹状細胞サブセットは免疫寛容や制御性T細胞の機能と増殖に関わる遺伝子を高発現している特徴を有することから、自己免疫疾患等を制御している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ultraviolet B (UVB) irradiation is known to induce immune tolerance. In this study, we investigated the roles of dendritic cells (DCs) subsets for UVB-mediated immune tolerance. We found that Langerin negative DCs but not LCs or Langerin positive dermal DCs are required for regulatory T cells (Tregs) expansion in UVB-exposed skin. Upon UVB exposure, CD11b-type Langerin negative DCs upregulated the expression of several tolerogenic genes related to Tregs function and proliferation. These results indicate that CD11b-type Langerin negative DCs from the UVB-exposed skin are specialized to expand Treg cells in the skin, which suppress autoimmunity.

研究分野：免疫学

キーワード：紫外線 制御性T細胞 樹状細胞

## 1. 研究開始当初の背景

我々は最近、マウスに紫外線を照射することによって皮膚の制御性 T 細胞が著しく増加するという現象を見いだした<sup>1)</sup>。制御性 T 細胞とは、CD4 陽性 Foxp3 陽性の細胞集団で、過剰な免疫応答を抑制し、免疫系の恒常性を維持する働きを持ち、自己免疫疾患やアレルギーを制御する上で重要な役割を担っている細胞である。即ち我々が見いだした、「紫外線が制御性 T 細胞を誘導する」という現象は、紫外線という環境要因が免疫系を制御する可能性を示唆する結果である。

一方で近年、乳幼児期におかれた環境要因(微生物への暴露等)と免疫系の発達が密接に結びついていることが示唆されている<sup>2)3)4)</sup>。

これらの事から我々は、乳幼児期の紫外線への暴露によって、制御性 T 細胞の分化増殖を誘導することで、免疫系を制御する能力の獲得に寄与するのではないかと、そして、その後の人生で過剰な免疫応答の結果として起こる自己免疫疾患やアレルギーの発症を抑制できる可能性があるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、紫外線を浴びることによって、制御性 T 細胞が増加するメカニズムを明らかにするため、紫外線照射後の皮膚において、複数存在する樹状細胞サブセットのうち、どの樹状細胞が制御性 T 細胞誘導に関与し、免疫寛容に寄与しているかを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

成熟マウス(C57BL/6)に 500mJ/cm<sup>2</sup>の紫外線を照射すると、7日後の皮膚では、CD4 陽性 T 細胞中の約 50-60%が制御性 T 細胞として増加する。制御性 T 細胞の誘導には樹状細胞が必要であるため<sup>5)6)7)8)9)</sup>まず、トランスジェニックマウス(Langerin-GFP-DTR)を用い、皮膚免疫に最も重要と考えられているランゲリン陽性細胞をジフテリアトキシン投与で除去した際に制御性 T 細胞が誘導されるかをみた。また、誘導された制御性 T 細胞が抑制機能を持つかを調べるために、コンベンショナル T 細胞と共培養して、その分裂・増殖が抑制されるかを検討した。次に、樹状細胞は複数のサブセット<sup>10)11)</sup>に分けられるため、ど

のサブセットの割合が増えているのかを調べた。また、表皮に存在するランゲリン陽性樹状細胞(ランゲルハンス細胞)、ランゲリン陰性樹状細胞、および真皮に存在するランゲリン陽性樹状細胞、ランゲリン陰性樹状細胞の 4 つのポピュレーションを分取し、CFSE で標識した制御性 T 細胞と IL-2 存在下で共培養して、制御性 T 細胞の分裂・増殖に関わっている樹状細胞を調べた。更に、この 4 種類の樹状細胞の RNA-seq 解析を行い、網羅的に遺伝子発現解析を行い、その特徴を解析した。

## 4. 研究成果

制御性 T 細胞の誘導には、樹状細胞が必要である事が知られているが、これら樹状細胞も機能によって様々なサブセットに分けられる。これまで、制御性 T 細胞の誘導に重要であると考えられていたのは、表皮に存在する CD11b-type ランゲリン陽性樹状細胞(ランゲルハンス細胞)であった。しかし今回、ランゲルハンス細胞およびランゲリン陽性樹状細胞を除去しても、紫外線照射後に皮膚での制御性 T 細胞は増えていた。また、このようにして増えていた制御性 T 細胞は抑制機能を持っていた。このことから、紫外線照射によって皮膚で増える制御性 T 細胞の誘導および抑制機能にはランゲルハンス細胞およびランゲリン陽性樹状細胞は必要ではなく、他の樹状細胞サブセットが関与している可能性が示唆された。

そこで、紫外線照射後 6 日目の皮膚を表皮と真皮に分け、真皮の樹状細胞を 3 つのサブセットに分けた。ランゲリン陰性 CD11b<sup>high</sup>(CD11b-type 樹状細胞)、ランゲリン陽性 CD11b<sup>inter</sup>(ランゲルハンス細胞)、ランゲリン陽性 CD11b<sup>low</sup>(CD103-type 樹状細胞)の割合を調べたところ、紫外線照射しないマウスの皮膚と比べ、ランゲリン陰性 CD11b<sup>high</sup> 樹状細胞のみ有意に増えていた。また、制御性 T 細胞の増加は、成熟した樹状細胞上に発現している CD86 によってコントロールされている<sup>5)12)</sup>ことから、上述した 3 つのサブセット上の CD86 の発現を見たところ、紫外線照射後にはランゲリン陰性 CD11b<sup>high</sup> 樹状細胞で CD86 の発現が有意に上がっていた。更に、CD80/86 を阻害する組換えたんぱく質(CTLA4-Ig)をマウスに投与すると、紫外線を照射しても制

御性 T 細胞は増えなかった。これらのことから、紫外線によって皮膚で増える制御性 T 細胞の誘導には、真皮に存在する CD11b-type ラングリン陰性樹状細胞が深く関わっていることがわかった。

更に、表皮に存在するランゲリン陽性樹状細胞 (ランゲルハンス細胞)、ランゲリン陰性樹状細胞、および真皮に存在するランゲリン陽性樹状細胞、ランゲリン陰性樹状細胞の 4 つのポピュレーションに分取し、CFSE ラベルした制御性 T 細胞と IL-2 の存在下で共培養すると、ランゲリン陽性樹状細胞と比較して CD11b-type ラングリン陰性樹状細胞との共培養下では、制御性 T 細胞の分裂が有意に増えていた。また、この CD11b-type ラングリン陰性樹状細胞を RNA-seq にて解析した結果、ランゲルハンス細胞および真皮のランゲリン陽性樹状細胞と比較して、免疫寛容や制御性 T 細胞の機能と増殖に関わる遺伝子が高発現していることがわかった。

以上のことから、紫外線照射した皮膚では、CD11b-type ラングリン陰性 CD11c 陽性樹状細胞が活性化し制御性 T 細胞を増加させ、皮膚での免疫寛容を誘導するのではないかと考えられた。それにより自己免疫疾患の発症を制御している可能性が示唆された。さらに詳細な解析が必要であるが、制御性 T 細胞による免疫寛容は長期に渡って維持されることから、幼少期での紫外線暴露が、本研究で明らかとなったメカニズムにより、制御性 T 細胞を誘導し、その後の自己免疫疾患の発症を抑える可能性があると考えられた。

- 1) Yamazaki S et al., *J Immunol.* (2014)
- 2) Gollwitzer ES et al., *Nat Med.* (2014).
- 3) Schuijs MJ et al., *Science* (2015).
- 4) Arrieta MC et al., *Sci Transl Med.* (2015)
- 5) Yamazaki S et al., *J Exp Med* (2003)
- 6) Yamazaki S et al., *Proc Natl Acad Sci USA* (2006)
- 7) Yamazaki S et al., *Blood* (2007)
- 8) Yamazaki S et al., *J Immunol* (2008)
- 9) Yamazaki S et al., *PLoSOne* (2012)
- 10) Naik S et al., *Science* (2012)
- 11) Cheong C et al., *J Immunol Methods* (2007)
- 12) Tang Q et al., *J Immunol.* (2003)

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Yamazaki, S., Odanaka, M., Nishioka, A., Kasuya, S., Shime, H., Hemmi, H., Imai, M., Riethmacher, D., Kaisho, T., Ohkura, N., Sakaguchi, S., Morita, A. Ultraviolet B-induced maturation of CD11b-Type Langerin- dendritic cells controls the expansion of foxp3+ regulatory t cells in the skin (2018) *Journal of Immunology*, 200 (1), pp. 119-129. (査読あり)

[学会発表] (計 7 件)

- ① Yamazaki, S., Odanaka, M., Shime, H., Imai, M., Nishioka, A., Kasuya, S., Riethmacher, D., Hemmi, H., Kaisho, T., Ohkura, N., Sakaguchi, S., Morita, A. Foxp3+ regulatory T cells are expanded by ultraviolet B-exposed PD-L1+ skin dendritic cell expressing a unique set of genes in a CSF1-independent manner. IID2018 International Investigative Dermatology. Florida, USA May (2018)
- ② Yamazaki, S., Nishioka, A., Kasuya, S., Odanaka, M., Hemmi, H., Imai, M., Riethmacher, D., Kaisho, T., Ohkura, N., Sakaguchi, S., Morita, A. The critical role of dendritic cell subset in expanding Foxp3+ regulatory T cells in the murine skin after ultraviolet B exposure. LC2017 15<sup>th</sup> International Workshop on Langerhans Cells. NewYork, USA Oct (2017)
- ③ Ken Kanno, Mizuyu Odanaka, Masaki Imai, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Mitsuhiko Nose, Hiroaki Henmi, Tsuneyasu Kaisho, Akimichi Morita, Sayuri Yamazaki Does Juzen-Taiho-To have immunosuppressive effect? 第45回日本免疫学会学術集会 Dec (2016)
- ④ Mizuyu Odanaka, Sayuri Yamazaki, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Osamu Taguchi, Masaki Imai, Akimichi Morita Ultraviolet B exposure expands skin-homing receptor+ Foxp3+CD4+ regulatory T cells in the skin. Cold Spring Harbor Conference Asia Awaji, Japan Oct (2016)

- ⑤ Masaki Imai, Mizuyu Odanaka, Shoryu Takayama, Rieko Ohta, Sayuri Yamazaki  
The complement anaphylatoxin C5ades Arg still induce the acute inflammatory response. Cold Spring Harbor Conference Asia Awaji, Japan Oct (2016)
- ⑥ Ken Kanno, Masaki Imai, Mizuyu Odanaka, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Mitsuhiko Nose, Hiroaki Henmi, Tsuneyasu Kaisho, Akimichi Morita, Sayuri Yamazaki Does Juzen-Taiho-To show therapeutic effect in Imiquimod-induced psoriatic mice? Cold Spring Harbor Conference Asia Awaji, Japan Oct (2016)
- ⑦ Sayuri Yamazaki, Mizuyu Odanaka, Akiko Nishioka, Saori Kasuya, Masaki Imai, Osamu Taguchi, Akimichi Morita. Ultraviolet B Expands Skin-Homing Thymus-derived Foxp3+ CD4+ Regulatory T Cells. Cold Spring Harbor Laboratory Meetings (2016)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)  
○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小田中 瑞夕 (ODANAKA, Mizuyu)  
名古屋市立大学大学院医学研究科・研究員  
研究者番号：00510281

### (2) 研究分担者

山崎 小百合 (Yamazaki, Sayuri)  
名古屋市立大学大学院医学研究科・教授  
研究者番号：70567255

### (3) 研究分担者

今井 優樹 (IMAI, Masaki)  
名古屋市立大学大学院医学研究科・講師  
研究者番号：30440936