

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07510

研究課題名（和文）紫外線による制御性T細胞の誘導機構と新たな生理作用の解明 -有効利用をめざして-

研究課題名（英文）Functional characterization of ultraviolet-expanded regulatory T cells in skin

研究代表者

志馬 寛明 (Shime, Hiroaki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：70372133

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：紫外線の照射を受けた皮膚では、CD4陽性Fopx3陽性制御性T細胞（regulatory T cell, Treg）が選択的に増加する。リンパ節や他の組織に浸潤する制御性T細胞や通常型T細胞と発現遺伝子を比較し、紫外線で増加した皮膚の制御性T細胞に特異的な遺伝子発現パターンを同定した。紫外線により増加した制御性T細胞は、プロエンケファリン（proenkephalin, PENK）やアンフィレグリン（amphiregulin, AREG）などを産生してケラチノサイトの増殖性および運動性を高め、皮膚の創傷治癒を促進することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

紫外線が人体に及ぼす有害な作用は広く知られる一方、有益な作用があることはほとんど知られていない。炎症性皮膚疾患の治療に有効な紫外線の作用に、制御性T細胞が関与することが示唆されてきた。本研究では、それに加えて、紫外線照射によって増加した制御性T細胞が創傷治癒を促進する機能を持つことを明らかにした。得られた研究成果は、紫外線を用いて皮膚の自然治癒能を高める方法の開発につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：CD4-positive Fopx3-positive regulatory T cells (Tregs) are selectively accumulated in the ultraviolet (UV)-irradiated skin. Gene expression of UV-expanded skin Treg cells was compared with that of Treg cells or conventional T (Tconv) cells in lymph nodes and other tissues. We identified a specific pattern of gene expression in UVB-expanded skin Treg cells and found that they promote skin wound healing by producing proenkephalin (PENK) and amphiregulin (AREG) to promote proliferation and motility of keratinocytes.

研究分野：免疫学

キーワード：制御性T細胞 創傷治癒 紫外線 皮膚 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

日常的に、我々の身体は太陽光に含まれる紫外線を浴びている。紫外線照射によって最も大きく影響を受けるのは皮膚であり、急性炎症反応、遺伝子変異による細胞がん化、免疫機能の抑制など多様な応答が起こる(図1)。地表に到達する紫外線量は年々増加していることから、今後ますます人体は多くの紫外線に曝露され続けることが予想されている。一方、適切な量の照射は皮膚の炎症性疾患の治療に効果があるなど、紫外線に有益な作用があることも明らかにされており、さら

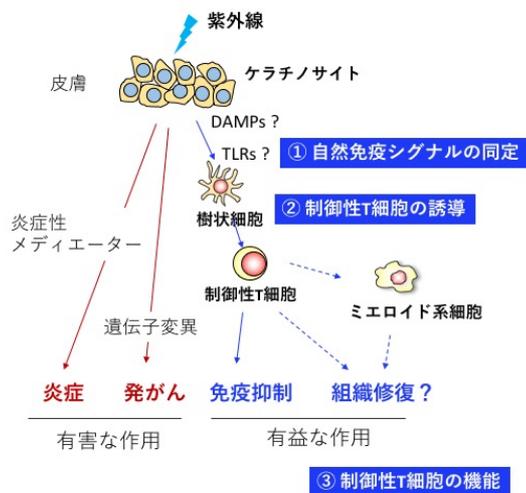


図1. 紫外線が人体に与える影響

なる臨床応用が期待される。これらのことから、紫外線が人体に与える影響についての詳細な知見が必要とされているものの、その全貌は明らかになっていない。

皮膚への紫外線照射によって、CD4陽性T細胞の中での制御性T細胞(regulatory T cell, Treg)の割合が、照射前の10%程度から50~60%にまで選択的に増加する(*J Immunol* 193(11):5488-97, 2014)。制御性T細胞の増加と活性化には、樹状細胞やサイトカインの刺激が関わる。皮膚でも、紫外線が特定の免疫シグナルを介して樹状細胞を活性化し、選択的に制御性T細胞を増殖させることが示唆されているが、その詳細は明らかにされていない。免疫抑制能は制御性T細胞に備わる基本的な機能であるが、紫外線照射で増加する制御性T細胞が皮膚の炎症を抑えているのか明らかでなかった。また、筋肉、脂肪、脳などの組織に浸潤した制御性T細胞は、リンパ節の制御性T細胞とは異なる機能を獲得しており、損傷組織の修復や組織機能の制御を行う。紫外線照射によって増加した皮膚の制御性T細胞が、炎症の制御以外の生理機能を有するのかどうかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、紫外線の照射によって、皮膚で制御性T細胞の増殖が選択的に誘導されるメカニズムと増加した制御性T細胞の生理的な機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

マウスに紫外線を照射し、皮膚および所属リンパ節から免疫細胞を単離した。フローサイトメトリー解析を行い、制御性T細胞および通常型T細胞(conventional T cell, Tconv)の表面マーカー、活性化分子、増殖関連因子などを蛍光標識特異抗体で染色して発現量を測定した。皮膚を経時的に採取し、リアルタイムPCR法によって遺伝子発現を解析した。また、紫外線照射後の皮膚から単離した制御性T細胞および通常型T細胞のRNA-seqデータ解析を行なった。紫外線照射したマウス、または未照射のマウスの背中に全創傷(full-thickness wound)を作成し、創傷部位の面積を経時的に測定して修復過程を観察した。ジ

フテリア毒素の投与により、Foxp3 陽性制御性 T 細胞を特異的に体内から排除することができ、Foxp3-DTR マウスを用いて、制御性 T 細胞の有無による皮膚の応答の違いを解析した。

4. 研究成果

紫外線照射した皮膚では、TNF- α 、IL-6 などの炎症性サイトカインの発現が高まると同時に炎症性マクロファージや好中球などのミエロイド系免疫細胞が一過性に集積した。Foxp3-DTR マウスで制御性 T 細胞を除去すると、これらの炎症応答が増大した。紫外線照射後の皮膚では、活性化マーカーの発現が高い制御性 T 細胞が増えていた。次に、紫外線照射した皮膚から単離した制御性 T 細胞の RNA-seq データを所属リンパ節から単離した制御性 T 細胞や皮膚の通常型 T 細胞のデータと比較したところ、プロエンケファリン (Proenkephalin, PENK) 遺伝子およびアンフィレグリン (Amphiregulin, AREG) 遺伝子の発現が高いことが分かった。さらに、他の組織に浸潤する制御性 T 細胞の既報のデータとも比較した場合、*Dgat2*、*Tnfrsf9*、*I11r2*、*I11r11*、*Areg*、*Klrg1* の 6 遺伝子の発現が高いことが、紫外線で増加した皮膚制御性 T 細胞の特徴であることも分かった。

Penk や *Areg* の発現および Gene Ontology エンリッチメント解析の結果から、紫外線で増加した制御性 T 細胞は、皮膚の創傷治癒を促進する可能性が見出された。実際に紫外線を照射した皮膚では、未照射の皮膚と比較して、全創傷の治癒が速やかに起こった。Foxp3-DTR マウスにジフテリア毒素を投与するとその効果は消失したことから、制御性 T 細胞が関与することが分かった。また、制御性 T 細胞は、表皮を形成するケラチノサイトの増殖性と運動性を高めた。以上のことから、紫外線で増加する皮膚の制御性 T 細胞は、再上皮化を促進して皮膚の創傷治癒能を高めることが明らかとなった (PNAS 117, 20696-20705, 2020、図 2)。

紫外線が制御性 T 細胞を選択的に増殖させるメカニズムについて、樹状細胞による増殖制御の観点から検討した。紫外線照射 1 日後から、皮膚の樹状細胞の活性化および成熟化が見られた。皮膚の樹状細胞のうち、CD11b 陽性樹状細胞のサブセットは、*ex vivo* で制御性 T 細胞の増殖を誘導した。皮膚の樹状細胞の RNA-seq 解析から、増殖誘導に関連することが予想されるリガンドと受容体のペアの候補を複数見出すことができた。今後、それらの分子を解析することにより、皮膚の制御性 T 細胞を選択的に増殖させることが可能なシグナルの同定につながることを期待される。

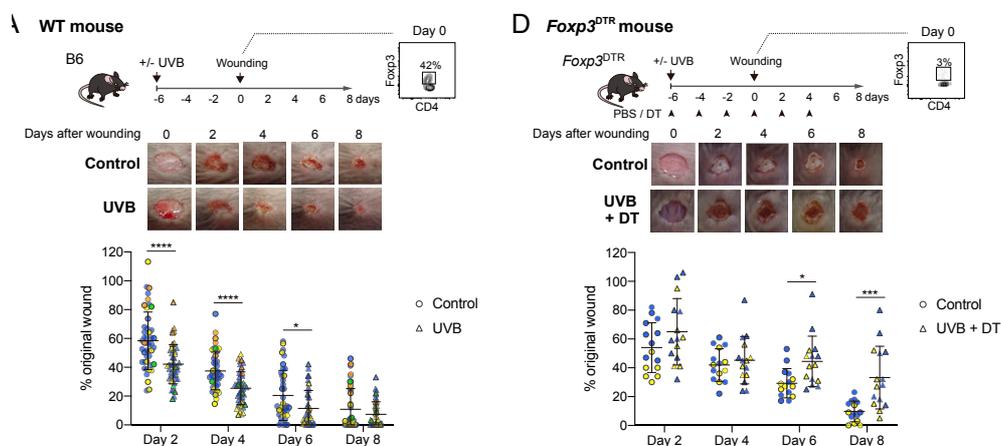


図 2. 紫外線照射による制御性 T 細胞依存的な創傷治癒促進作用
紫外線照射により創傷治癒は促進された（野生型マウス、左）が、制御性 T 細胞を除去する（Foxp3-DTR マウス、右）とその効果は消失した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uraki Ryuta, Imai Masaki, Ito Mutsumi, Shime Hiroaki, Odanaka Mizuyu, Okuda Moe, Kawaoka Yoshihiro, Yamazaki Sayuri	4. 巻 17
2. 論文標題 Foxp3+ CD4+ regulatory T cells control dendritic cells in inducing antigen-specific immunity to emerging SARS-CoV-2 antigens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1010085
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.ppat.1010085	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 -
1. 著者名 Shime Hiroaki, Odanaka Mizuyu, Tsuiji Makoto, Matoba Takuma, Imai Masaki, Yasumizu Yoshiaki, Uraki Ryuta, Minohara Kiyoshi, Watanabe Maiko, Bonito Anthony John, Fukuyama Hidehiro, Ohkura Naganari, Sakaguchi Shimon, Morita Akimichi, Yamazaki Sayuri	4. 巻 118
2. 論文標題 Reply to Slominski et al.: UVB irradiation induces proenkephalin+ regulatory T cells with a wound-healing function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2021919118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2021919118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Shime Hiroaki, Odanaka Mizuyu, Tsuiji Makoto, Matoba Takuma, Imai Masaki, Yasumizu Yoshiaki, Uraki Ryuta, Minohara Kiyoshi, Watanabe Maiko, Bonito Anthony John, Fukuyama Hidehiro, Ohkura Naganari, Sakaguchi Shimon, Morita Akimichi, Yamazaki Sayuri	4. 巻 117
2. 論文標題 Proenkephalin+regulatory T cells expanded by ultraviolet B exposure maintain skin homeostasis with a healing function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 20696 ~ 20705
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2000372117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ikumi Kyoko, Odanaka Mizuyu, Shime Hiroaki, Imai Masaki, Osaga Satoshi, Taguchi Osamu, Nishida Emi, Hemmi Hiroaki, Kaisho Tsuneyasu, Morita Akimichi, Yamazaki Sayuri	4. 巻 139
2. 論文標題 Hyperglycemia Is Associated with Psoriatic Inflammation in Both Humans and Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1329 ~ 1338.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.01.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shime H, Odanaka M, Tsuiji M, Imai M, Yasumizu Y, Uraki R, Bonito A, Fukuyama H, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A, and Yamazaki S.
2. 発表標題 Proenkephalin+ regulatory T cells expanded by ultraviolet-B exposure maintain skin homeostasis with a healing function.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Uraki R, Imai M, Shime H, Kawaoka Y, Yamazaki S.
2. 発表標題 Transient depletion of Treg cells induces adaptive immunity to SARS-CoV-2 antigens.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Odanaka M, Shime H, Tsuiji M, Imai M, Yasumizu Y, Uraki R, Bonito A, Fukuyama H, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A, and Yamazaki S.
2. 発表標題 Skin regulatory T cells expanded by ultraviolet B exposure have a unique gene expression profile compared to other tissue Treg cells.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浦木隆太, 今井優樹, 伊藤睦美, 志馬寛明, 小田中瑞夕, 奥田萌, 河岡義裕, 山崎小百合
2. 発表標題 制御性T細胞を標的としたSARS-CoV-2に対する新規予防法の開発.
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamazaki S, Shime H, Odanaka M, Tsuiji M, Matoba T, Imai M, Yasumizu Y, Uraki R, Minohara K, Watanabe M, Bonito A, Fukuyama H, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A.
2. 発表標題 Skin regulatory T cells producing proenkephalin expand upon ultraviolet B exposure without ST2-IL33 axis and promote keratinocyte outgrowth.
3. 学会等名 第46回日本研究皮膚科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamazaki S, Shime H, Odanaka M, Tsuiji M, Matoba T, Imai M, Yasumizu Y, Uraki R, Minohara K, Watanabe M, Bonito A, Fukuyama H, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A.
2. 発表標題 Skin regulatory T cells possessing a healing function are expanded by ultraviolet-B exposure.
3. 学会等名 第45回日本研究皮膚科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroaki Shime, Mizuyu Odanaka, Masaki Imai, Naganari Ohkura, Shimon Sakaguchi, Akimichi Morita, Sayuri Yamazaki
2. 発表標題 Functional characterization of regulatory T (Treg) cells in UVB-irradiated skin
3. 学会等名 第48回 日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sayuri Yamazaki, Mizuyu Odanaka, Hiroaki Shime, Masaki Imai, Hiroaki Hemmi, Tsuneyasu Kaisho, Naganari Ohkura, Shimon Sakaguchi, Akimichi Morita
2. 発表標題 Regulatory T cells with a distinctive feature expand through dermal dendritic cells in the ultraviolet B exposed skin
3. 学会等名 16th international workshop on Langerhans cells (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sayuri Yamazaki, Mizuyu Odanaka, Hiroaki Shime, Masaki Imai, Hiroaki Hemmi, Tsuneyasu Kaisho, Naganari Ohkura, Shimon Sakaguchi, Akimichi Morita
2. 発表標題 Dermal dendritic cells present neo-self antigens induced by ultraviolet B exposure to expand Foxp3+ regulatory T cells
3. 学会等名 77th annual meeting of Society for investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sayuri Yamazaki, Mizuyu Odanaka, Hiroaki Shime, Masaki Imai, Hiroaki Hemmi, Tsuneyasu Kaisho, Naganari Ohkura, Shimon Sakaguchi, Akimichi Morita
2. 発表標題 Skin dendritic cells expressing a unique set of genes associated with immunological tolerance are specialized to expand thymus-derived Foxp3+ regulatory T cells upon ultraviolet B exposure
3. 学会等名 Japan-Singapore Skin International Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼子 ひとみ、小田中瑞夕、志馬寛明、山崎小百合
2. 発表標題 Characterization of Foxp3+ Regulatory T cells Expanded in Ultraviolet-B-irradiated Skin
3. 学会等名 【新学術ネオ・セルフ】第3回若手の会
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
研究 分担 者	山崎 小百合 (Yamazaki Sayuri) (70567255)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	小田中 瑞夕 (Odanaka Mizuyu) (00510281)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究分担者	今井 優樹 (Imai Masaki) (30440936)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	

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