

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17777

研究課題名(和文) 痒疹の発症における皮膚 T細胞の役割～2型・17型免疫応答の協働～

研究課題名(英文) The role of skin gamma delta T cells in the pathology of prurigo ~ collaboration of type 2 and type 17 immune responses ~

研究代表者

指宿 敦子 (Ibusuki, Atsuko)

鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教

研究者番号：10596109

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)：IL-13は、おもにTh2型のCD4陽性 T細胞から産生されるサイトカインであり、アトピー型アレルギーにおいて重要な役割を担っている。ヒトの表皮内 T細胞は大量の IL-13を産生する。痒疹患者をアトピー素因の有無で2群に分け、それぞれの皮膚病変部に浸潤するリンパ球を免疫染色により解析し比較したところ、アトピー素因を有する痒疹患者の皮膚病変部には T細胞が有意に増加していることを確認した。さらに症例数を増やし、痒疹の臨床病型、考えられる要因毎に解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトにおける痒疹病変の免疫学的応答を確認するとTh2型免疫応答と、表皮肥厚などを引き起こすTh17型免疫応答がみられる。本研究により、アトピー素因をもつ痒疹患者において T細胞が増加しており病態の形成に関与している可能性が明らかになった。 T細胞はTh2サイトカインとTh17サイトカインの産生能を有することが知られており、 T細胞の関与する痒疹の発症機序が明らかにされれば、本疾患に対する効果的な治療法を開発する糸口がつかめると予想される。

研究成果の概要(英文)：IL-13 is a cytokine mainly produced by Th2-type CD4-positive T cells and plays an important role in atopic-type allergy. Human intraepidermal T cells produce large amounts of IL-13. When prurigo patients were divided into two groups according to the presence or absence of atopic predisposition and the lymphocytes infiltrating each skin lesion were analyzed and compared by immunostaining, T cells were significantly increased in the skin lesions of prurigo patients with atopic predisposition. We will analyze more cases by clinical type of prurigo and possible factors.

研究分野：皮膚科学

キーワード： T細胞 痒疹

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IL-13 は、おもに Th2 型の CD4 陽性 $\alpha\beta$ T 細胞から産生されるサイトカインであり、IgE 産生を介して感染防御やアトピー型アレルギーにおいて重要な役割を担っている。DETC (dendritic epidermal T cell)として知られるマウスの表皮内 $\gamma\delta$ T 細胞は機械的刺激、紫外線、化学物質などに反応して感作を必要とせずに大量の IL-13 を産生する。DETC 由来の IL-13 は経皮感作によるアトピー型アレルギーの誘導に働くほか、皮膚バリアの維持や皮膚発癌の抑制においても重要な役割を担っている(文献①)。我々も DETC の産生する IL-13 が皮膚における創傷治癒を誘導することを明らかにしている(未発表データ)。ヒトの表皮内 $\gamma\delta$ T 細胞が DETC と同様に大量の IL-13 を産生することが報告されている(文献)。このことは、ヒト表皮内 $\gamma\delta$ T 細胞が DETC の機能的ホモログであり、IL-13 産生能は表皮内 $\gamma\delta$ T 細胞の最も重要な機能の一つであることを示している。痒疹とは強いかゆみを伴う孤立性の丘疹を特徴とし、痒疹反応と呼ばれる、生体が示す皮膚の特殊な反応に起因する疾患群である。痒疹はアトピー性皮膚炎によくみられることからわかるように、Th2 型の免疫応答が主体の反応である。ヒトにおける痒疹病変の免疫学的応答を確認すると、表皮細胞の核内にリン酸化した STAT3 と Th2 型免疫応答を介在する STAT6 の染色像がみられ、さらに痒疹病変部の mRNA では Th2 型サイトカインと、表皮肥厚などを引き起こす Th17 型サイトカインの発現が増加している。IL-17 はアトピー性皮膚炎の病態に関与していることが知られており、IL-17⁺ $\gamma\delta$ T 細胞もアトピー性皮膚炎の病態に関与している(文献)。IL-17⁺ $\gamma\delta$ T 細胞はその他、乾癬や創傷治癒遅延にも関わるが、痒疹における役割は不明である。その他に好塩基球、肥満細胞、樹状細胞、マクロファージなどの関与が考えられるが、それらの細胞がどの程度痒疹に関与するのか、また相互作用についてなど未解明の状況である。 $\gamma\delta$ T 細胞は、Th2 サイトカインと Th17 サイトカインの産生能を有することから、痒疹の病態形成に深く関わっていると考えられるが、痒疹における $\gamma\delta$ T 細胞の寄与解明には至っていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、痒疹の発症における皮膚 $\gamma\delta$ T 細胞の関与について明らかにすることで痒疹の病態を解明することである。ヒト $\gamma\delta$ T 細胞の重要性が次第に認識されてきており、これまでに乾癬の病態への関与や、経皮感作によるアトピー型アレルギーの誘導に働くことも知られている。ところが、痒疹における $\gamma\delta$ T 細胞の関与については解明されていない。本研究は痒疹の発症における $\gamma\delta$ T 細胞の役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

痒疹モデルマウスにおける表皮内 T 細胞のサイトカイン産生能の解析

(1) Hashimoto らが開発した痒疹モデルマウス(文献)を使用して痒疹を作製し、病変部の組織を採取する。病変部の $\gamma\delta$ T 細胞についてモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的あるいは免疫蛍光染色で同定し、 $\gamma\delta$ T 細胞の数、形態について検討する。痒疹の病態に関与しているサイトカイン(IL-4、IL-13、IFN γ 、IL-31、IL-17、IL-22 など)についてモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的あるいは免疫蛍光染色をおこない、さらに $\gamma\delta$ T 細胞の二重染色を行い $\gamma\delta$ T 細胞の産生するサイトカインについて解析する。

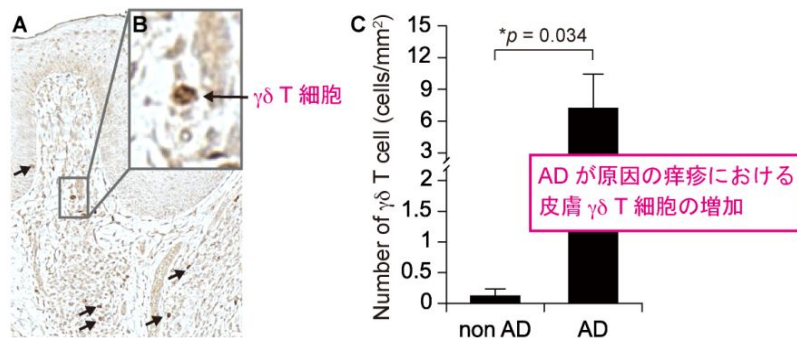
(2) 病変部の皮膚からトリプシン処理により表皮細胞を単離する。brefeldin A 存在下で固層化抗 TCRC δ 抗体または PMA+イオノマイシンで刺激する。無刺激あるいは刺激後の細胞を抗 V γ 3TCR 抗体および抗 CD27 抗体で細胞表面染色後、固定・膜透過処理し、抗 IFN- γ 抗体、抗 IL-

4 抗体、抗 IL-13 抗体、抗 IL-17A 抗体を用いて細胞内染色を行う。V γ 3TCR 陽性細胞にゲーティングして、各サイトカインの発現をフローサイトメトリーを用いて解析する（文献 ）。

4 . 研究成果

痒疹モデルマウスの導入が計画通りに進められず、ヒトの痒疹患者の臨床検体を使用して痒疹の病態解明を試みた。

痒疹患者のパラフィン包埋組織を用いて免疫染色を施行し、皮膚病変部に浸潤するリンパ球を免疫染色により解析し比較した。アトピー素因の有無で 2 群に分け、比較したところ、アトピー素因を有する痒疹患者の皮膚病変部には $\gamma\delta$ T 細胞が有意に増加していることを確認した（図 A-C）。



また、共生細菌叢による IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞の活性化は TGF- β 1 シグナル抑制因子である CD109 により抑制されることが報告されている（文献 ）。CD109 はマウスの表皮に発現しており、CD109 ノックアウトマウスでは STAT 3 のリン酸化が生じ、表皮肥厚と過角化が引き起こされている（文献 ）。表皮肥厚が生じている痒疹患者においても CD109 の発現が低下していることが予測され、現在免疫染色を施行し解析中である。

< 引用文献 >

Strid J, et al. The intraepithelial T cell response to NKG2D-ligands links lymphoid stress surveillance to atopy. *Science* 2011;334:1293-1297.

Dalessandri T, et al. IL-13 from intraepithelial lymphocytes regulates tissue homeostasis and protects against carcinogenesis in the skin. *Nat Commun* 2016;30:12080.

③ Kim et al. Comparative Analysis of Human Epidermal and Peripheral Blood $\gamma\delta$ T Cell Cytokine Profiles. *Ann Dermatol* 2014;26:308-313

④ Mizukawa et al. Thymic stromal lymphopoietin-induced interleukin-17A is involved in the development of IgE-mediated atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Immunology* 2015;146:568-581

⑤ Hashimoto T et al. Protective Role of STAT6 in Basophil-Dependent Prurigo-like Allergic Skin Inflammation. *J Immunol* 2015;194:4631-4640

⑥ Ibusuki et al. NKG2D triggers cytotoxicity in murine epidermal $\gamma\delta$ T cells via PI3K-dependent, Syk/ZAP70-independent signaling pathway. *J Invest Dermatol* 2014;134:396-404

⑦ Zhang et al. CD109 Restrains Activation of Cutaneous IL-17-Producing $\gamma\delta$ T Cells by Commensal Microbiota. *Cell Rep* 2019; 29: 391-405

⑧ Mii et al. Epidermal hyperplasia and appendage abnormalities in mice lacking CD109. *Am J Pathol* 2021; 181: 1180-9

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------