

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08299

研究課題名（和文）皮膚resident memory T細胞の構築・維持機構の解明

研究課題名（英文）The elucidation of development and maintenance mechanism of skin resident memory T cells

研究代表者

渡辺 玲（Watanabe, Rei）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教授

研究者番号：60463866

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、特に皮膚resident memory T細胞（TRM）で発現増強が見られるFABP4/FABP5に着目し、TRMの構築・維持機構をヒト皮膚・マウスモデルで解析した。ヒト皮膚では、加齢に伴い特に表皮内TRMが増数し、表皮・真皮ともTRMのFABP5発現が高まることが判明した。FABP5の発現強度と相関する細胞表面分子・転写因子に、TRM関連分子が複数同定され、FABP5とこれらの分子を結ぶカスケードを探索できた。マウスモデルでは、TRM介在接触過敏反応がFABP5欠損マウスで減弱し、FABP5がTRM様細胞の構築には影響しないものの、その機能、局所維持に司ることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果から、細胞内脂肪酸キャリアタンパクであるFABP5が特にTRMのエフェクター機能、局所維持に関わることが判明し、皮膚においては外用剤による皮膚TRMのFABP5発現制御が皮膚TRMのエフェクター機能・局所維持の制御に結びつく可能性が考えられた。例えば皮膚局所感染症においては、FABP5の発現促進が、TRMのエフェクター機能促進による感染制御、局所維持による予防効果につながる可能性が期待される一方、TRMが関わる多くの臓器特異的な免疫疾患においてはFABP5の発現抑制が疾患コントロールにつながる可能性が考えられ、本研究結果の、FABP5を標的とした疾患治療への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this research project, we focused on the involvement of FABP4/FABP5, which show enhanced expression in skin resident memory T cells (TRM). We analyzed the mechanisms underlying the development and maintenance of TRM in human skin and murine models. In human skin, it was found that with aging, especially epidermal TRM increased in number, and expression intensity of FABP5 in both the epidermal and dermal TRM was elevated. Several TRM-related molecules were identified that correlated with the intensity of FABP5 expression and could explore cascades linking FABP5 to these molecules. In the murine model, TRM-mediated contact hypersensitivity reaction was attenuated in FABP5-deficient mice, indicating that while FABP5 does not affect the construction of TRM-like cells, it is involved in their effector function and local maintenance.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：Resident memory T細胞

1. 研究開始当初の背景

本邦では100歳以上の高齢者数が2020年現在で8万人を超え、未曾有の高齢化社会を迎えつつある。それに伴い、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。申請者は現在まで行ってきた皮膚 resident memory T細胞 (TRM) に関する研究において、高齢者皮膚 T細胞が、細胞のレベルでは血中と異なり高い抗原応答能を維持していることを見出した。実際に、皮膚局所感染症の頻度は加齢とともに上がることがないことも報告されている。一方、皮膚、肺をはじめバリア組織をエントリーとする全身性感染症の発症頻度、重篤化の危険性が高齢者において著明に高まることから、皮膚 TRM による免疫記憶が加齢に伴い正常に発揮されなくなることを想定し、皮膚 T細胞の特徴に着目した高齢者における皮膚免疫低下の予防策が必要と考えられた。

2. 研究の目的

皮膚 T細胞の脂肪酸代謝の観点から、皮膚 T細胞特に皮膚 TRM の構築維持・機能発揮の機序を解明し、皮膚 T細胞がより効率的に免疫応答を発揮できるようにする手法の確率につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

TRM で発現増強が見られる細胞内脂肪酸キャリアタンパクである脂肪酸結合タンパク (fatty acid binding protein: FABP) 4・5に着目し、ヒト皮膚検体とマウスモデルから検証を行った。

4. 研究成果

異なる年齢層のヒト皮膚検体を手術余剰検体から入手し、ディスペラーゼ・コラゲナーゼによる酵素処理を経て、表皮・真皮単離細胞を得た。各々の分画に対して flow cytometry で T細胞における細胞内脂肪酸キャリアタンパク FABP4・FABP5 の発現強度と TRM 細胞表面分子の発現の関係を調べたところ、加齢に伴い特に表皮内で皮膚 TRM が増数し、表皮・真皮とも TRM の FABP5 発現が高まることが判明した。TRM の表面発現分子の発現強度と FABP5 発現強度も、特に真皮で緩やかな相関が見られた。また、異なる年齢層の皮膚から酵素処理、flow cytometry により単離した T細胞において single cell RNAseq を行ったところ、年齢層により異なる TRM の亜分画があることが分かった。表皮・真皮の分画で、TRM 亜分画の分布が異なることも明確となり、総じて細胞傷害性 TRM の加齢による増加が推察された。また、FABP5 の発現強度と相関する細胞表面分子・転写因子に、TRM と関わる分子が複数見つかかり、これらの分子と FABP5 発現とを結ぶカスケードの候補が検索された。一方、循環 memory T細胞に相当する分画は高齢者皮膚で減少しており、これらの分画は FABP5 発現が減弱していた。

マウスモデルでは、FABP4 欠損マウス、FABP5 欠損マウスを作成した。ハプテン (DNFB を用いた) day -7 腹部塗布、day 0 耳介塗布で接触過敏反応 (CHS) を惹起した後、day 28 にハプテン塗布耳介に TRM が構築されることを確認し、さらにこの耳介にハプテン再塗布を行うことで、TRM 介在 CHS (TRM-CHS) を生じさせ (図 1)、この反応強度を野生型マウスと比較したところ、いずれの欠損マウスでも TRM-CHS の耳介腫脹が野生型と比較して減弱傾向にあり、FABP4 欠損マウスより FABP5 欠損マウスにおいて TRM-CHS の減弱が明確であった (図 2)。したがって、皮膚 TRM の機能に FABP5 の関与が強いことが推察された。FABP5 欠損マウスにおいては、day 28 に耳介に構築された TRM 様の表現型を有する T細胞が野生型と比較して減少しており、FABP5 が TRM 構築に関わる分子であることが推察された。さらに、FABP5-

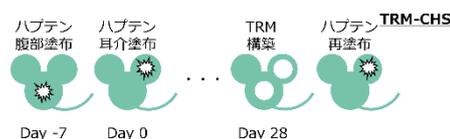


図 1: TRM-CHS モデル
ハプテンとして DNFB を用いた。

マウスモデルでは、FABP4 欠損マウス、FABP5 欠損マウスを作成した。ハプテン (DNFB を用いた) day -7 腹部塗布、day 0 耳介塗布で接触過敏反応 (CHS) を惹起した後、day 28 にハプテン塗布耳介に TRM が構築されることを確認し、さらにこの耳介にハプテン再塗布を行うことで、TRM 介在 CHS (TRM-CHS) を生じさせ (図 1)、この反応強度を野生型マウスと比較したところ、いずれの欠損マウスでも TRM-CHS の耳介腫脹が野生型と比較して減弱傾向にあり、FABP4 欠損マウスより FABP5 欠損マウスにおいて TRM-CHS の減弱が明確であった (図 2)。したがって、皮膚 TRM の機能に FABP5 の関与が強いことが推察された。FABP5 欠損マウスにおいては、day 28 に耳介に構築された TRM 様の表現型を有する T細胞が野生型と比較して減少しており、FABP5 が TRM 構築に関わる分子であることが推察された。さらに、FABP5-

flox マウスを作成し、T 細胞特異的 FABP5 欠損マウスにおいても TRM-CHS を解析したところ、全身性の FABP5 欠損マウスと同様に、TRM-CHS の減弱がみられた。このモデルにおいて、T 細胞特異的 FABP5 欠損では TRM 様の細胞表面分子を発現した T 細胞が野生型と同様の密度で構築されることが判明した。ただし、これらの TRM 様細胞では炎症性サイトカイン産生が減弱し、また、野生型と比較して皮膚局所維持が短縮していた。つまり、FABP5 が、TRM の機能、局所維持を司る分子の一つであると考えられた。

FABP5 は、ケラチノサイトをはじめとする皮膚を構成する多くの細胞における発現が知られており、その発現は T 細胞特異的ではない。したがって、上述の結果から、皮膚 TRM の構築には T 細胞以外の皮膚構成細胞が発現する FABP5 が関わり T 細胞自体の FABP5 発現が影響しないこと、皮膚 TRM の維持と $TNF\alpha/IFN\gamma$ 産生に反映される TRM のエフェクター機能は、T 細胞自体が発現する FABP5 に依存することが判明した。

以上のヒト皮膚検体解析結果、マウスモデル解析結果を併せ、皮膚 TRM の局所維持・機能発揮に FABP5 発現が必要であり、加齢に伴ってこの分子の発現は維持されていると考えられた。一方で、FABP5 発現の減弱した循環 memory T 細胞分画が高齢者皮膚で減少することが、高齢者における重篤な全身性感染症に関連する可能性が想定された。今後、皮膚局所の免疫記憶と全身性の免疫記憶の連関の解明を進めていきたい。

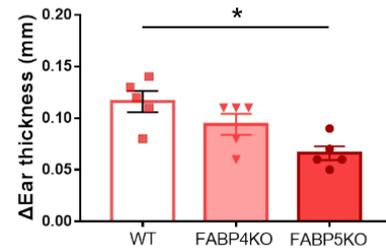


図 2 : TRM-CHS 耳介腫脹の比較
野生型 (WT)、FABP4 欠損 (FABP4KO)、FABP5 欠損 (FABP5KO) において、図 1 のように TRM-CHS を惹起し、DNFB 再塗布後の耳介腫脹を比較した。* $p < 0.05$ 。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nakai S, Watanabe R, Fujimoto M.
2. 発表標題 Fatty-acid binding protein 5 in T cells is required not for the development but for the functional activities of skin resident memory T cells.
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nakai S, Watanabe R, Koguchi-Yoshioka H, Fujimoto M.
2. 発表標題 The development and functional activities of skin resident memory T cells depend more on fatty-acid binding protein 5 than on fatty-acid binding protein 4.
3. 学会等名 The First International Societies for Investigative Dermatology Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------	---------