

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16276

研究課題名（和文）皮膚移植片対宿主病におけるレジデントメモリーT細胞の病態進展・維持機構の解明

研究課題名（英文）The elucidation of the function of resident memory T cells in graft-versus-host disease

研究代表者

久保田 典子（KUBOTA, Noriko）

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：10844847

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：抗原刺激を受けたナイーブT細胞は、エフェクターT細胞とメモリーT細胞に分化するが、メモリーT細胞のうちレジデントメモリーT(TRM)細胞は臓器中に長く留まる。皮膚中のTRM細胞は様々な皮膚疾患の発症に関与している。一方、CD122はIL-2とIL-15受容体の鎖サブユニットで、TRM細胞上に発現している。我々は、皮膚中のCD8+TRM細胞へのCD122の刺激が、皮膚移植片対宿主病(GVHD)の進展に関与しているかを調べる実験を行い、皮膚中のCD8+TRM細胞が、部分的に皮膚GVHDの進展に関与しており、CD122をブロックすることが、皮膚GVHDの治療方法になり得る可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は皮膚GVHDモデルマウスを用いた研究において、移入したドナーT細胞の一部が皮膚TRMとなって皮膚に残存し、慢性化して持続した皮膚症状を形成し、皮膚の線維化に関与していることを解明した。さらにその機序は、抗CD122抗体の投与で抑制されることを証明した。慢性化する皮膚自己免疫疾患のプロトタイプである、皮膚GVHDにおける皮膚TRMの機能を解明した報告はこれまでになく、CD122が、皮膚GVHDに対する新たな治療ターゲットとなり得る可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：Antigen-stimulated naive T cells differentiate into effector and memory T cells, of which resident memory T (TRM) cells reside permanently in organ tissues. Involvement of TRM cells has been indicated in pathological conditions of various skin diseases. CD122, which is the chain subunit of interleukin (IL)-2 and IL-15 receptors, is expressed on immune cells including TRM cells. We performed experiments to investigate whether CD122 signaling in skin CD8+TRM cells mediates the development of cutaneous graft-versus-host disease (GVHD). We elucidated that particularly skin memory CD8+ T cells mediate the development of skin GVHD, and blockade of CD122 may be an effective treatment strategy for skin GVHD.

研究分野：免疫アレルギー

キーワード：移植片対宿主病 レジデントメモリーT細胞 CD122

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

移植片対宿主病(GVHD)は、ドナーリンパ球がレシピエント組織上の主要組織適合抗原(MHC)を異物として攻撃することで起こる一種の人工的な自己免疫反応で、肝炎・腸炎と共に紅色丘疹や水疱を伴う皮膚炎が3大主要徴候である。急性皮膚GVHDにおいては、細胞傷害性CD8+T細胞による表皮角化細胞の傷害が本態と考えられている(Correia O, et al. *Dermatology* 203, 2001)。また、移植後100日以上に渡って慢性化する症例も多く、多形皮膚萎縮や強皮症様の皮膚硬化をきたし難治性で、QOLの著しい低下が問題となる。しかし、その慢性化機構は複雑で、特異的治療法開発には至っていない。

近年、抗原刺激を受けたnaïve T細胞の一部が、末梢組織に移行した後、そのまま組織に長く留まるresident memory T細胞( $T_{RM}$ )に分化することが明らかとなった。皮膚においては、メラノサイトへの自己免疫疾患である尋常性白斑において、皮膚CD8+ $T_{RM}$ が白斑を進展・持続させると報告された(Richmond JM, et al. *Sci Trans Med.* 10, 2018)。皮膚 $T_{RM}$ 構築に必須のサイトカインはinterleukin(IL)-15である。CD122はIL-2/IL-15受容体のサブユニットで、T細胞やNK細胞などに発現して、これらの細胞の活性化や維持に働く受容体構成分子であることから、CD122が $T_{RM}$ 制御の治療標的分子であると期待されている。

$T_{RM}$ が皮膚GVHDにおいて、病態の進展や持続・慢性化に関与するか、皮膚GVHDにおいてもCD122が治療標的分子となり得るかはまだ未解明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、表皮抗原特異的自己免疫性細胞傷害性CD8+T細胞で惹起される皮膚GVHDの進展や維持において、皮膚 $T_{RM}$ の存在の証明と、その免疫学的機能を解明し、IL-15受容体分子CD122を標的とした新規治療戦略を確立することを目的とした。

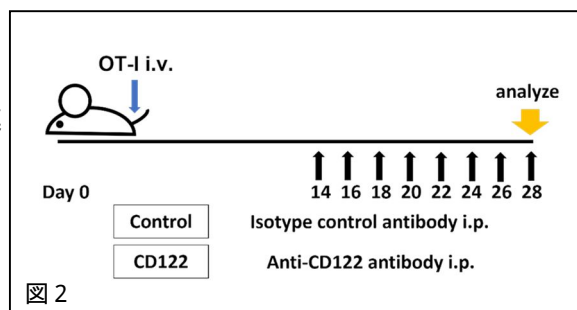
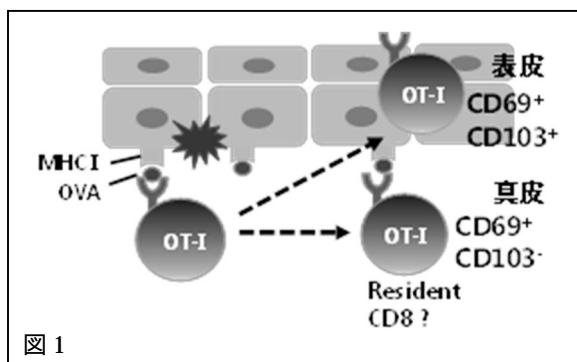
### 3. 研究の方法

#### (1)GVHD様自己免疫性皮膚粘膜疾患誘導モデルマウスにおける、皮膚での $T_{RM}$ の動態は？

表皮角化細胞特異的に卵白アルブミン(OVA)遺伝子を導入したkeratin 14 promoter-membrane ovalbumin transgenic(K14-mOVA Tg)マウス(米国国立衛生研究所Stephen I Katz博士より譲渡)へ、OVA特異的CD8+T細胞(OT-I細胞)を移入すると、移入後14日で急性GVHD様の皮膚粘膜症状が顕在化し、移入後28日では皮膚線維化を主体とした強皮症様の慢性GVHD様皮膚症状が惹起される。このモデルマウスを用いて、GFPが組み込まれたOT-I細胞を移入後、経時的にマウス耳介を採取し、コラゲナーゼを用いて、表皮・真皮組織中に浸潤したGFP+OT-I細胞とCD69+ $T_{RM}$ の割合、CD122の発現をフローサイトメトリー解析する。また皮膚組織内CD69+ $T_{RM}$ のうち、CD103を発現する表皮 $T_{RM}$ とCD103陰性真皮 $T_{RM}$ の動態も解析する(図1)。

#### (2)慢性期皮膚GVHDでの $T_{RM}$ の機能は？

K14-mOVA TgマウスにOT-I細胞を移入後、急性GVHD様皮膚症状が完成した14日目から抗CD122抗体(ChMBC7)を週3回、100 $\mu$ gずつ腹腔内投与し、慢性GVHD様皮膚症状が抑制されるか否かを解析する。具体的には移入後28日目における皮膚症状の程度を、耳、足、尾のびらんや脱毛の範囲を点数化して合計を算出した慢性GVHDスキンスコアを用いて評価する。また線維化の評価として、耳介皮膚病理組織で表皮顆粒層から脂肪織上までの真皮厚を計測し、病理学的に評価すると共に、耳介皮膚における*Coll1a1*や*Coll1a2*、*Ifng*などの線維化に関連する遺伝子発現をリアルタイムPCRで解析し評価する。また、28日目における耳介皮膚組織中の総OT-I数と、CD103+CD69+表皮OT-I $T_{RM}$ 数とCD103-CD69+真皮OT-I $T_{RM}$ 数をフローサイトメトリー解析する(図2)。



### 4. 研究成果

#### (1)抗原特異的CD8+T細胞の一部は皮膚GVHD発症後、皮膚に留まり $T_{RM}$ に分化する。

K14-mOVA Tgマウスに移入したOT-I細胞は、移入後、皮膚に移行する。皮膚組織中のOT-I細胞数は8日目でピークに達するが、以降も一部は残存し、CD103+の表皮CD69+ $T_{RM}$ や

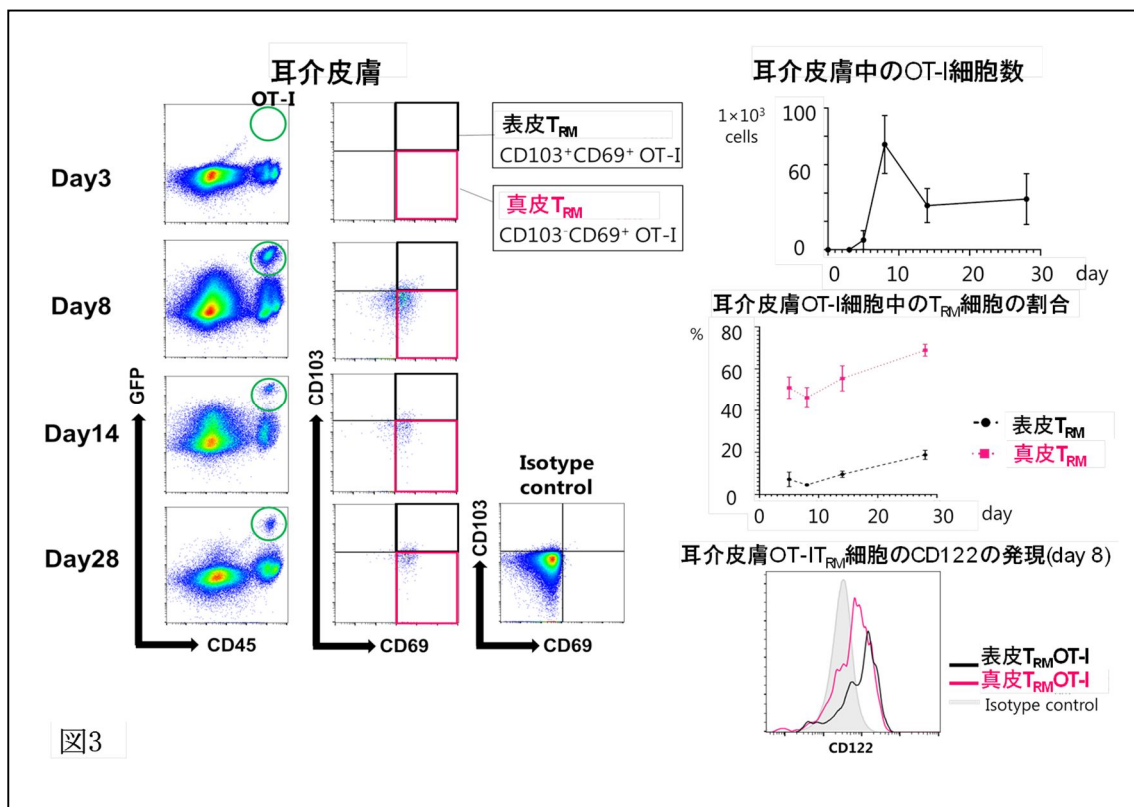
CD103-の真皮 CD69+T<sub>RM</sub> に分化し、さらにそれらの細胞は CD122 を発現していることが分かった(図 3)。

**(2)抗 CD122 抗体の投与により、表皮、真皮の OT-I T<sub>RM</sub> 数が減少し、慢性 GVHD 様皮膚症状で起こる線維化が抑制された。**

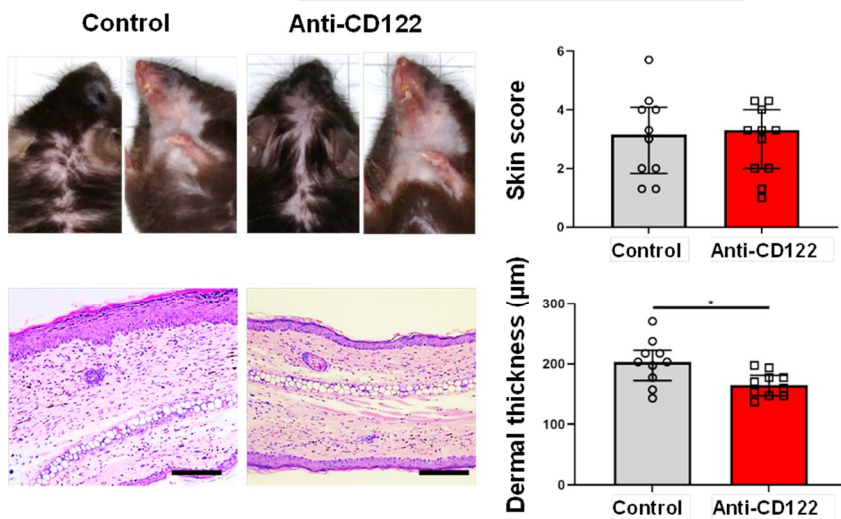
K14-mOVA Tg マウスに OT-I 細胞を移入後、急性 GVHD 様皮膚症状が完成した 14 日目から抗 CD122 抗体(ChMBC7)を投与したところ、28 日目には脱毛の範囲は変わらなかったが、皮膚組織中の線維化に關与する *Coll1a1*, *Coll1A2*, *Ifng* の遺伝子発現が減少し、病理組織学的に真皮厚が減少しており、線維化が抑制されていることが分かった。また、皮膚組織中に浸潤した表皮、真皮の OT-I T<sub>RM</sub> 数も減少していることが分かった(図 4)。

IFN- $\gamma$  は真皮内のマクロファージを活性化し、線維化を促進する因子である TGF- $\beta$  の産生を誘導するが、一方で、角化細胞のアポトーシスを誘導し TGF- $\beta$  が放出されることも報告されている。また、T<sub>RM</sub> が IFN- $\gamma$  を産生することも知られており、本研究においては、CD122 のシグナルを遮断することで、抗原特異的 T<sub>RM</sub> が減少し、IFN- $\gamma$  の産生が低下したことで慢性 GVHD 様皮膚症状で起こる線維化が抑制された機序が推定された。

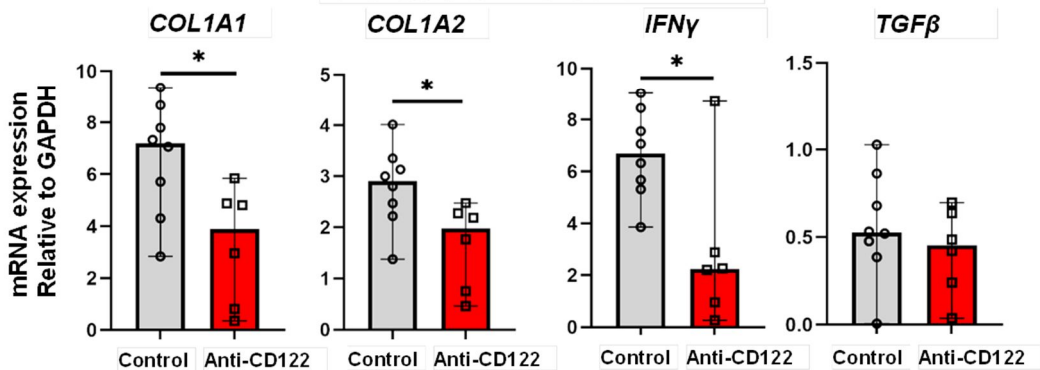
慢性化する皮膚自己免疫疾患のプロトタイプである、皮膚 GVHD における皮膚 T<sub>RM</sub> の機能を解明した報告はこれまでになく、CD122 が、皮膚 GVHD に対する新たな治療ターゲットとなり得る可能性を示した。



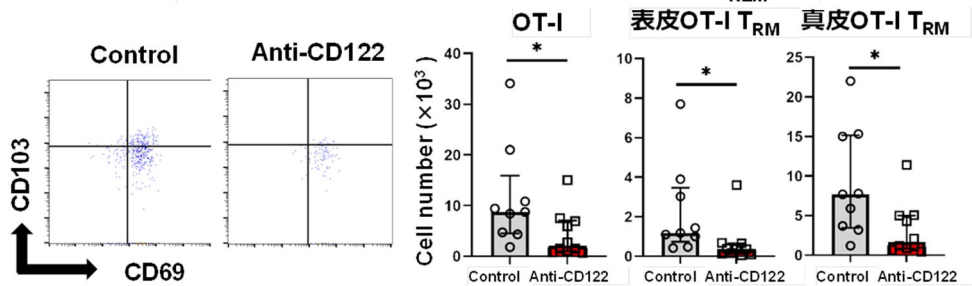
### 慢性GVHD様皮膚症状の解析



### 耳介皮膚組織中の遺伝子発現



### 耳介皮膚組織中の総OT-I細胞数と表皮/真皮OT-I T<sub>RM</sub>数



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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kubota Noriko, Tanaka Ryota, Ichimura Yuki, Konishi Risa, Tso J.Yun, Tsurushita Naoya, Nomura Toshifumi, Okiyama Naoko	4. 巻 109
2. 論文標題 Blockade of CD122 on memory T cells in the skin suppresses sclerodermatous graft-versus-host disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 127 ~ 135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdermsci.2023.03.003	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kubota N, Tanaka R, Ichimura Y, Konishi R, Tso JY, Tsurushita N, Nomura T, Okiyama N
2. 発表標題 Blockade of CD122 particularly on skin memory T cells suppresses mucocutaneous graft-versus-host disease
3. 学会等名 1st 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
---------	---------