

皮膚駐在性メモリーT細胞に着目した、アトピー性皮膚炎寛解維持療法の確立

江川形平

京都大学大学院医学研究科 皮膚科学

【研究の背景】

皮膚駐在性のメモリーT細胞(resident memory T cell: Trm)の研究は主にCD8陽性T細胞について行われており、CD4陽性Trmについての研究は少ない。これはCD8陽性Trmが表皮内に入り込んで皮内に留まるのに対し、CD4陽性Trmはその多くが真皮内に留まること、また少なくとも一部は血液を介して体内を循環しており、Trmの同定が容易ではないことが挙げられる。よってCD8陽性T細胞が病態の中心となるウイルス感染モデルや接触皮膚炎モデルにおける皮膚Trm細胞の解析は進んでいるが、アトピー性皮膚炎(AD)や遅延型過敏反応といったCD4陽性T細胞が重要である疾患におけるTrmの役割については不明の点が多い。そこで我々は、皮内におけるCD4陽性Trmの性質や誘導/維持のメカニズムを解析するべく、本研究を開始した。

【目 的】

アトピー性皮膚炎を代表とする「慢性的な皮膚炎」の形成に皮膚のCD4陽性Trm細胞が関与しているとの仮説を立てた。病態形成におけるTrm細胞の果たす役割、皮膚駐在メカニズムを明らかにすることで、慢性炎症性皮膚疾患治療における新たな寛解維持戦略を確立することが本研究の目的である。

【方 法】

代表的な2型皮膚炎モデルである遅延型過敏反応を用いて以下の解析を行う。

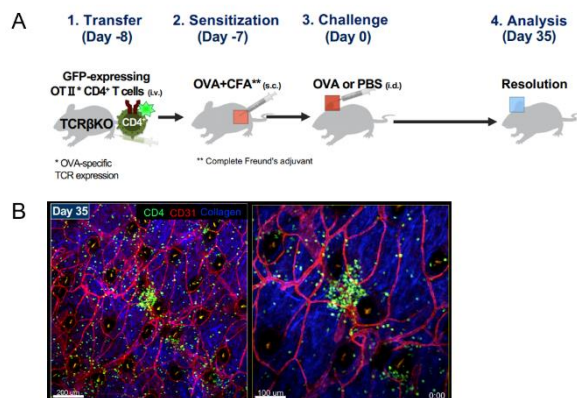
- I. 遅延型過敏反応を用いたCD4陽性Trmの誘導モデルの確立
- II. KikGRマウスを用いた組織駐在性の証明
- III. Trmクラスターに存在するDCサブセットの解明
- IV. Trmクラスターの維持メカニズムの解明

【結 果】

I. 遅延型過敏反応を用いたCD4陽性Trmの誘導モデルの確立

遅延型過敏反応(DTH)はタンパク抗原に対するIV型アレルギーであり、CD4陽性T細胞が病態の中心となる。そこで我々はまずDTHモデルを用いて皮膚にCD4陽性Trmを誘導する実験系を確立した。実験の手順を図1に示す。TCRβ欠損マウスに、卵白アルブミン(OVA)を特異的に認識するT細胞(OT2細胞)を移入した。尾根部にOVAとアジュバント(CFA)を皮下注してOVAに感作し、感作1週間後に耳介にOVAを皮下注し皮膚炎を惹起した。このマウスを5週間放置したのちに耳を観察すると、真皮の血管周囲に多数のOT2細胞を観察された(図1B)。炎

図1



症が収束後も長く皮膚に留まっているこれらの細胞は、Trm であると考えられた。

II. KikGR マウスを用いた組織駐在性の証明

観察された真皮内の OT2 細胞が実際に Trm であることを確認するために KikGR マウスを用いた検討を行った。図 2A に実験の概要を示す。TCR β 欠損マウスに KikGR+OT2 細胞を移入し、OVA/CFA で感作後、耳介で DTH を誘導した。5 週間後、マウス耳介に紫色光を照射し、光転換をおこなった。Violet laser 照射 2 日後に観察すると、図 2B に示すとおり殆どの OT2 細胞が赤色蛍光を発することが確認された。すなわち、われわれの実験系で観察している OT2 が皮膚駐在性であり、Trm であることが証明された。

III. Trm クラスターに存在する DC サブセットの解明

どのようなメカニズムで CD4 陽性 Trm クラスターが形成されているかを検証した。免疫組織染色では、血管周囲 CD4 陽性 Trm クラスター内に CD11b 陽性細胞が共局在し、Trm と接着している像が観察された(図 3A 右)。樹状細胞は CD8 陽性 T 細胞に抗原をクロスプレゼンテーションするcDC1 と、CD4 陽性細胞に抗原提示するcDC2 に分類されるが、Trm クラスター内の CD11b細胞は XCR1 陰性、CD301b 陽性のcDC2 であることが明らかとなった(図 3B)。

図2

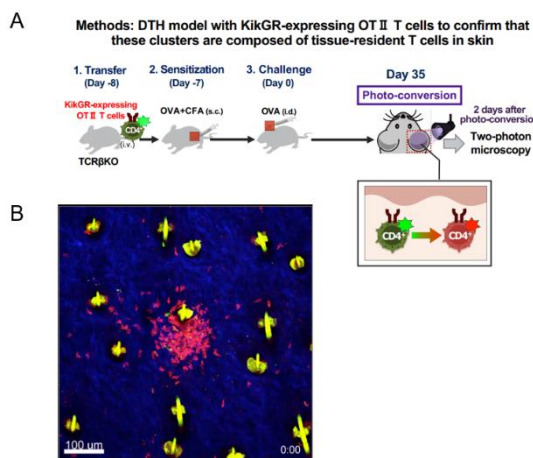
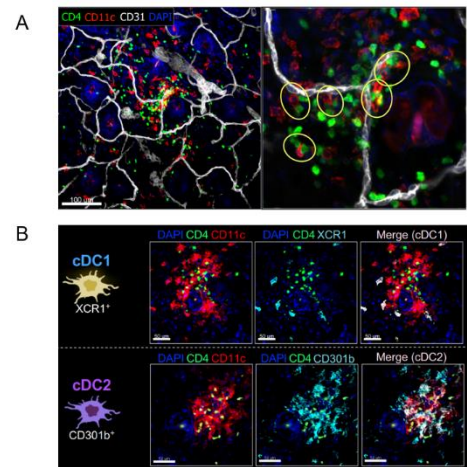


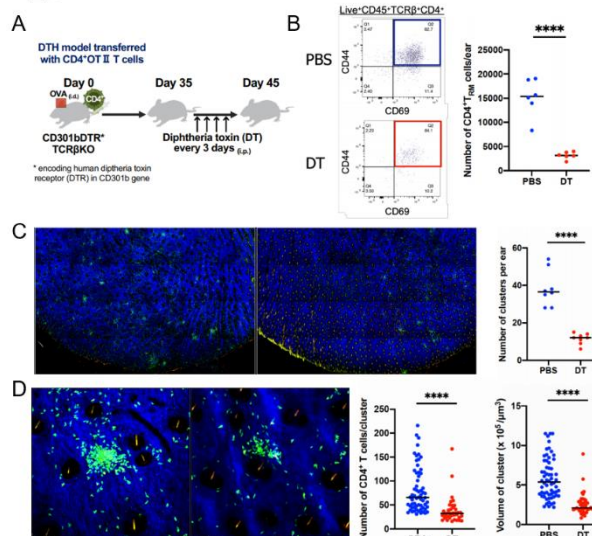
図3



IV. Trm クラスターの維持メカニズムの解明

CD301b 陽性cDC2 を特異的に除去することのできる CD301b-DTR マウスの皮膚に Trm を誘導後、ジフテリア毒素を投与して CD301b 陽性細胞を除去した(図 4A)。すると、皮内の Trm の減少(図 4B)、Trm クラスターの減少(図 4C)、クラスター内の Trm の減少(図 4D)が観察された。また、クラスター内のcDC2 が Cxcr6 を特異的に発現していることが RNA-seq による解析から明らかになった。現在、Cxcr6シグナルを阻害することで皮膚炎を改善することができるかの検証を進めている。

図4



【考 察】

今回の研究結果から、皮膚炎の寛解後も多数の CD4⁺T 細胞が Trm として皮膚にとどまっていることが示唆される。CD4⁺Trm が主に真皮血管周囲でクラスターを形成していることも興味深い知見である。同クラスターが、皮膚内で CD4 陽性 Trm が維持されるためのニッチとなっているのかも知れない。cDC2 の存在、また Cxcr6 を介するシグナルがクラスターの維持に必須である可能性が示唆されており、その阻害実験等により臨床応用への可能性を現在探っている。Trm についての知見を増やすことは CD4⁺T 細胞が病態形成に大きく関わるアトピー性皮膚炎などの疾患コントロールを考えるうえで重要と考えられる。Trm の維持に重要なサイトカイン等を同定し、それを阻害するといった Trm をターゲットとした治療戦略が今後の研究の発展で可能になってくるかもしれない。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

AD は乳幼児のおよそ 1 割、成人の 2-3% が罹患するとされる common disease であるが、軽快増悪を繰り返しながら慢性に経過し、治療に難渋することも少なくない。病原性を持つ皮膚 Trm に特異的な分子を標的とし、細胞を皮膚から消失させるなどの制御が可能となれば、AD の再発コントロールを容易にし、医療費の抑制に大きく貢献することが期待される。

【参考・引用文献】

学会発表:

Maintenance of pathogenic CD4⁺ tissue-resident memory T cells by CD301b⁺ dendritic cells via CXCL16 in a mouse model of allergic dermatitis. Asahina R., Minami F., Egawa G., Nakamizo S, Kabashima K. 第 47 回日本研究皮膚科学会、長崎、2022 年 12 月

*Paper is in preparation.