

自己免疫反応を基盤とした皮膚線維化機構に関する研究

研究分担者 沖山奈緒子

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学 教授

研究要旨

全身性強皮症や限局性強皮症は自己免疫的機序を基盤として線維化を起こしてくる疾患と考えられている。移植片対宿主病は、血液悪性疾患の治療で行われる同種異系幹細胞移植の副作用であり、ドナー由来免疫担当細胞がレシピエント臓器組織を攻撃することで起こる、人工的な自己免疫反応であり、慢性化すると強皮症様皮膚線維化を起こしてくるから、強皮症のモデルとして捉えられている。

皮膚における自己免疫反応では、活性化したT細胞がインターフェロン γ を産生して組織マクロファージを刺激し、トランスフォーミング増殖因子 β 産生を誘導することにより、線維化を来してくることが分かっていた。我々はさらに、移植片対宿主病様自己免疫皮膚炎モデルマウスでは、慢性化すると皮膚硬化を来す際に、ドナー細胞傷害性T細胞の産生するインターフェロン γ が、角化細胞からのトランスフォーミング増殖因子 β 産生を誘導することを示した。

本研究では、インターフェロン γ 産生ドナーCD8 T細胞が、移入後にレジデント T細胞として皮膚に留まること、そのCD8 T細胞は、抗CD122抗体にて活性化抑制されること、その治療によって、慢性移植片対宿主病様皮膚硬化が軽快することを示した。本研究結果から、皮膚線維化を起こす自己免疫疾患の新規治療法として抗CD122抗体療法が提案される。

A. 研究目的

全身性強皮症や限局性強皮症は、患者血清より自己抗体が検出されることなどから、自己免疫反応を基盤として線維化を起こしてくる疾患と考えられているが、その機構にはいまだ不明な点が多い。皮膚や肺においては、線維化機構の一つとして、組織マクロファージが、T細胞の産生するインターフェロン（IFN） γ の刺激を受けて、線維化サイトカインであるトランスフォーミング増殖因子（TGF） β を産生し、線維芽細胞を刺激してコラーゲン産生を促進することで、線維化に寄与することが示唆されている。

一方、血液疾患の治療として行われる幹細胞移植後副作用である移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）は、同種異系幹細胞由来のドナー由来免疫担当細胞が、レシピエントの臓器細胞を異物と見なして攻撃する、人工的な自己免疫反応とも言える疾患であり、3徴の一つが皮膚炎である。苔癬反応を呈する皮膚炎後、慢性皮膚GVHDでは、全身性強皮症もしくは限局性強皮症の皮膚線維化病変を形成する。このため、GVHDマウスモデルは強皮症のモデルマウスとしても広く使われている。

我々は、自己免疫反応を基盤とした皮膚線維化機構について、皮膚GVHDモデルを用い、皮膚角化細胞も、ドナーCD8 T細胞の産生するIFN γ の刺激を受けて、TGF β を産生し、皮膚線維化に関わることを見出している（Saito A., Okiyama N*. *J Invest Dermatol.* 141(6):1473-1481, 2021）。

本研究では、このドナーT細胞の皮膚での動態を明

らかにし、皮膚線維化における特異的治療標的となり得るかを検討することを目的とした。

B. 研究方法

ケラチン14プロモーター下に卵白アルブミンを遺伝子発現させたマウス（Keratin 14-promotor membrane-binding ovalbumin transgenic マウス、K14-mOVA Tg マウス）に、OVA 特異的 T細胞受容体を組み込んだCD8 T細胞である OT-I 細胞を移入して発症させる、皮膚GVHDモデルマウスを解析した。OT-I細胞は蛍光色素GFPを発現させたRag-1ノックアウトマウスにOT-I遺伝子発現させたGFP⁺OT-I⁺Rag1⁻マウスリンパ節より回収して使用する。

GFPをマーカーとして皮膚組織内でのOT-I細胞を追跡し、そのプロファイルをフローサイトメトリー解析した。

また、レジデントメモリーT細胞を主に除去する目的で、抗CD122抗体療法を選択し、本モデルマウスの治療実験を行い、急性GVHD様皮膚炎と慢性GVHD様皮膚線維化を、臨床症状と病理学的解析した。

（倫理面への配慮）

ヒト検体を用いた検討は、「臨床研究に関する倫理指針」に基づき、機関の臨床研究倫理審査委員会で承認を受けた。

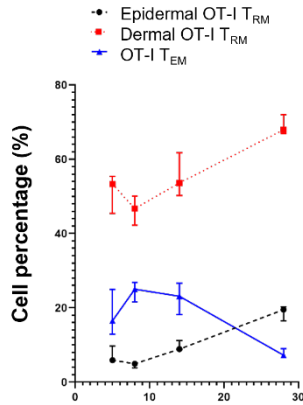
動物実験は、「動物の保護および管理に関する法律」と「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本方針」に準じて、機関の動物実験委員会で承認を得て行った。また、遺伝子組換え実験に際しては、「遺伝子

組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」をもとに、機関の遺伝子組換え実験安全委員会で承認を受けた。

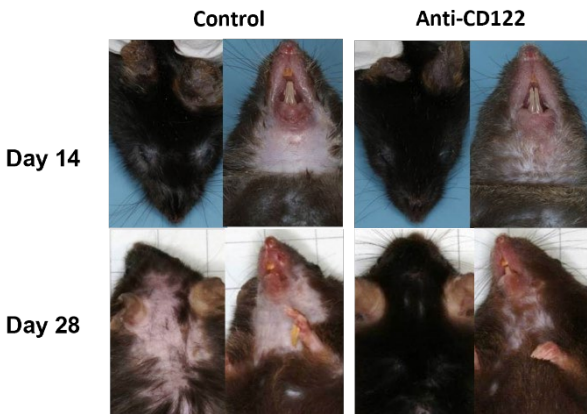
C. 研究結果

皮膚 GVHD モデルマウスは、OT-I 細胞移入 14 日目には急性 GVHD 様びらん性皮膚炎を呈するが、さらに OT-I 細胞移入 28 日目まで観察すると、野生型 (WT) マウスと比べて、慢性 GVHD 様皮膚硬化を呈して来る。

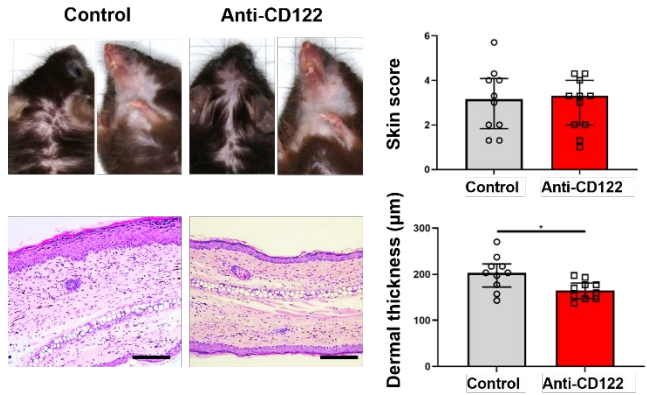
OT-I 細胞は移入後、皮膚組織内で 5 日目より存在し、14 日目、28 日目と CD69 陽性 Resident Memory T 細胞 (T_{RM}) のフェノタイプを呈する細胞集団が増えてくる。表皮 CD103 陽性 OT-I T_{RM} ・真皮 CD103 陰性 OT-I T_{RM} ともに増加する (右図)。



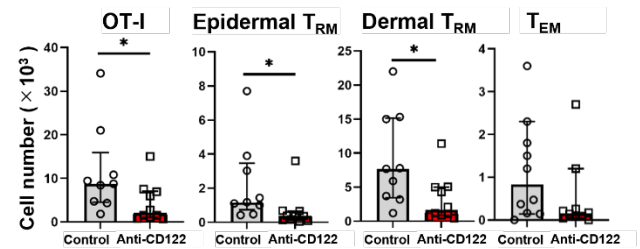
CD122 は IL-2/15 受容体コンポーネントで、本研究で使用した抗 CD122 抗体 (クローン: ChMBC7) は、IL-15 が受容体に結合することを遮断して、 T_{RM} 細胞活性化を抑制する。抗 CD122 抗体治療を、本モデルで OT-I 細胞移入 7 日目より行ったところ、急性 GVHD 様皮膚炎とそれに引き続く皮膚線維化は抑制された (下図)。この時、 T_{RM} フェノタイプの OT-I 細胞も、Effector Memory T 細胞 (T_{EM}) フェノタイプの OT-I 細胞も皮膚組織内で減少していた。



次に、抗 CD122 抗体治療を、本モデルで急性 GVHD 様皮膚炎が完成した OT-I 細胞移入 14 日目より行ったところ、皮膚硬化は、脱毛範囲などはコントロール抗体投与群と変わりがなかったものの、皮膚病理組織像では真皮厚が抑制された (次図)。



この時は、皮膚組織内で T_{RM} フェノタイプの OT-I 細胞は減少していたものの、 T_{EM} フェノタイプの OT-I 細胞はあまり減少していなかった (下図)。



D. 考察

皮膚慢性 GVHD モデルマウスにて、表皮反応性 CD8 T 細胞が T_{RM} フェノタイプとなって皮膚組織に留まること、その自己反応性 CD8 T_{RM} 細胞は CD122 を介した IL-15 の作用によって活性化して、皮膚硬化への進展に寄与することが示された。

E. 結論

自己免疫性皮膚炎に引き続く皮膚硬化では、表皮反応性 CD8 T_{RM} 細胞の活性化を抑制する抗 CD122 抗体治療が皮膚硬化への進展を抑える新規治療法となり得る。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kubota N, Tanaka R, Ichimura Y, Konishi R, Tso JY, Tsurushita N, Nomura T, Okiyama N*. Blockade of CD122 on memory T cells in the skin suppresses sclerodermatous graft-versus-host disease. **J Dermatol Sci.** 2023, *Online*

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし