

(第 12 号様式)

学 位 論 文 の 要 約 (研 究 成 果 の ま と め)

氏 名 井上 卓

学位論文名 **T 細胞におけるヒストン H3K27 脱メチル化酵素 Utx の
低下は接触性皮膚炎を重症化する**

アレルギー性接触皮膚炎 (ACD) の病因には、エフェクターおよび制御性 T (T reg) 細胞を含む抗原特異的 T 細胞の活性化が必要である。抗原特異的 T 細胞の分化と機能は、DNA メチル化とヒストン修飾によってエピジェネティックに調節されている。中でも、ヒストン H3K27 リジン基におけるメチル化は T 細胞分化を決定する上で重要な働きを持つことが示唆されているが、ACD の発症における T 細胞のヒストン H3K27 メチル化の変化の役割は不明である。近年、2 種類のヒストン H3K27 脱メチル化酵素、Utx と Jmij3 が哺乳類で報告された。そこで ACD 発症中の T 細胞におけるヒストン H3K27 脱メチル化酵素発現の役割を解析するために、本研究では T 細胞特異的に Utx または Jmjd3 を欠損させたノックアウトマウスを使用した。ACD の発症には 2-4-ジニトロフルオロベンゼン (DNFB) を使用し、皮膚に反復塗布する事で誘導した。

DNFB で誘発した ACD において興味深い事に Utx 欠損 (Utx KO) マウスは WT マウスと比較して重度の炎症反応を示したが、Jmjd3 欠損 (Jmjd3 KO) マウスにおいては、症状に有意差を認めなかった。採取した組織切片はこの結果を支持する炎症細胞の集積を提示した。

次に炎症皮膚の解析を行った。Utx KO マウスの皮膚では、好中球、好酸球分画が増加し、 $\alpha\beta$ T 細胞分画は低下していたが、Ifng、Il13 および Csf2 を含む炎症誘発性サイトカインの発現は有意に増加していた。総 CD8 + T 細胞由来の炎症誘発性サイトカインの発現は WT マウスとほぼ同等であった。この結果から本研究では CD4 + T 細胞に焦点を当てた。

次に所属リンパ節を回収し、T 細胞分画と発現するサイトカイン、転写因子の解析を行った。Utx KO マウスの所属リンパ節において、集積した全 T 細胞に対する CD4+T 細胞の割合、絶対数は WT マウスよりも有意に減少していた。炎症性サイトカインの mRNA は Ifng、Csf2 mRNA の発現は有意に高かったが、Il17a、Il17f および IL22mRNA の発現は有意に低かった。また Il17a および IL17fmRNA の発現が低いことに一致して、Th17 細胞分化のマスター転写因子である Rorc も有意に低下していた。Th1 細胞分化のマスター転写因子である Tbx21 と Th2 細胞分化のマスター転写因子である Gata3 の発現は WT マウスと Utx KO マウスの間で同等であった。

次に所属リンパ節から皮膚への CD4 + T 細胞移行を評価するため、皮膚向性ケモカイン受容体 Ccr4 の発現を各 CD4+T 細胞サブセットで解析した。結果、Utx の欠損により、Th2 細胞における Ccr4 の発現は増強し、Th17 細胞においては減弱した。この結果は Utx KO Th2 細胞が皮膚に移行しやすい可能性を示唆した。

一方で、炎症を抑制する T reg 細胞に着目したところ、ACD を誘導した皮膚において Utx KO マウスに集積する T reg 細胞の割合は有意に減少していた。興味深い事に所属リンパ節における T reg 細胞の割合、絶対数も低下しており、炎症抑制サイトカインである Il10 やマスター転写因子 Foxp3 の mRNA 発現も有意に低下していた。これらの結果から Utx KO マウスでは Naïve T 細胞の T reg 細胞への分化は制限されている事が示唆された。またインビトロにおいて T reg 細胞における Ccr4 の発現は有意に低下していた。これらの結果は Utx KO マウスにおける ACD の皮膚症状増悪に関連していると考えられた。

まとめると、抗原特異的 CD4 + T 細胞における Ifng、Csf2 および Il13 などの炎症誘発性サイトカインの産生増強、Th2 細胞における Ccr4 発現の増強、Foxp3 + T reg 細胞への分化能の低下、T reg 細胞における Ccr4 発現の低下、の 4 つの要因が Utx KO マウスにおいて ACD の病状を悪化させる可能性がある和我々は結論付けた。 [Inoue and Omori-Miyake, 2021 : 主論文]

皮膚における IFN- γ の発現は、T 細胞および炎症性樹状細胞の蓄積、ケラチノサイトにおける単球の化学誘引および活性化因子の産生をもたらす可能性がある。IL-13 産生は、ケラチノサイトでの CCL22 の誘導を介して皮膚を T 細胞へと引き付け (26)、GM-CSF は、DC、マクロファージ、および顆粒球を介した組織炎症のメディエーターの 1 つになると考えられている (29)。したがって、Utx KO T 細胞由来の炎症誘発性サイトカイン産生の増加は皮膚に集積した全ての免疫細胞の蓄積と関連している可能性がある。in vitro で iTreg 条件下で培養された Jmjd3 欠損 CD4 + T 細胞では Foxp3 + T reg 細胞の生成が減少することが報告されているが、我々の研究では Utx 欠損 CD4 + T 細胞も Foxp3 + T reg 細胞の生成が減少することを示した。炎症抑制サイトカイン Il10 の発現は、in vivo でも invitro でも減少を呈した。また驚くべきことに、Utx KO マウスの皮膚における T reg 細胞の存在は、Utx KO マウスの排液 LN における存在と同様に減少しており、これは Ccr4 発現の低下が関与していると考えられた。

ACD を誘導した Utx KO マウスおよび invitro での Utx KO CD4 + T 細胞で観察されたこれらの結果は、ACD の病因の悪化の原因として説明することができる。

「この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。」 (1938 文字)

主論文 : Takashi Inoue, Miyuki Omori-Miyake, Saho Maruyama, Masataka Okabe, Makoto Kuwahara, Hiroaki Honda, Hiromasa Miura, Masakatsu Yamashita: The loss of H3K27 histone demethylase Utx in T cells aggravates allergic contact dermatitis
Journal of Immunology 採択済み