

学位論文審査結果の要旨

氏名	井上 卓
審査委員	主査 佐山 浩二 副査 増本 純也 副査 加藤 英政 副査 石前 峰斉 副査 三宅 映己

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

審査結果の要旨

【目的】

アレルギー性接触皮膚炎（ACD）の病態には、エフェクターおよび制御性 T（Treg）細胞などの抗原特異的 T 細胞の活性化が深く関わっている。抗原特異的 T 細胞の分化や機能は、DNA メチル化やヒストン修飾を介してエピジェネティックに調節されている。特に、ヒストン H3K27 メチル化は T 細胞の分化・機能を決定する上で重要な働きを持つことが示されているが、ACD の発症における T 細胞のヒストン H3K27 メチル化の変化の影響は明らかになっていない。哺乳類では、2 種類のヒストン H3K27 脱メチル化酵素、Utx と Jmjd3 が存在する。そこで本研究では、Utx または Jmjd3 を T 細胞特異的に欠損させたノックアウトマウスを実験に用いて ACD 発症中の T 細胞におけるヒストン H3K27 脱メチル化酵素の役割について解析を行った。

【方法】

T 細胞特異的 Utx 欠損（Utx KO）マウスおよび Jmjd3 欠損（Jmjd3 KO）マウスを作成し実験に用いた。コントロール（WT）には、C57BL/6 マウスを用いた。ACD の発症には 2-4-ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）を使用した。腹部に DNFB を塗布して感作し、5、10、15 日目に DNFB を耳介もしくは背部に反復塗布した。耳介腫脹量の推移を評価する事で炎症反応を定量的に評価し、集積した免疫細胞の解析を行った。また、剃毛した背部を再刺激しその所属リンパ節を回収する事で CD4+ T 細胞（Th）サブセットの分化と産生サイトカインの解析、お

よび皮膚への移行性を検討した。また、脾臓由来ナイーブ CD4+ T 細胞を用いて、Th 分化に対する影響を解析した。

【結果】

WT マウスと比較して、Utx KO マウスは2回目の反復塗布以後より重度の耳介炎症を呈したが、Jmjd3 KO マウスの症状は WT マウスと同等であった。Utx KO マウスの耳介組織において、表皮から真皮にかけて炎症細胞の有意な増加が確認された。Utx KO マウスの耳介皮膚に集積した CD4+ T 細胞における炎症性サイトカインの発現は、有意に増加していた。一方、CD8+ T 細胞の炎症性サイトカインの発現は WT, Utx KO 間で同等であったことから、炎症反応の差異は、CD4+ T 細胞を介したものであると推測された。Utx KO マウスの所属リンパ節では、炎症性サイトカインの Ifng, Csf2 mRNA の発現が有意に高かった。Utx KO CD4+ T 細胞における皮膚向性ケモカイン受容体 Ccr4 の *in vitro* における発現は、Th2 細胞において増強していた。この結果から Utx KO Th2 細胞が皮膚に移行しやすい可能性が考えられた。一方で Treg 細胞は、Utx KO マウスにおいて分化が低下しており、Il10 や Foxp3 の mRNA 発現が有意に低下していた。さらに、*in vitro* 解析で、Utx KO Treg 細胞における Ccr4 の発現が有意に低下していた。

【結語】

本研究では、T 細胞における Utx の欠損は ACD を重症化させることを見出し、その原因を明らかにするため、Utx KO Th 細胞に着目して解析を行なった。その結果、1) 抗原特異的 CD4+ T 細胞における Ifng, Csf2, Il13 などの炎症性サイトカインの発現増強、2) Th2 細胞における Ccr4 発現の増強、3) Treg 細胞への分化能の低下、4) Treg 細胞における Ccr4 発現の低下、を明らかにした。この4つの要因により、Utx KO マウスにおいて ACD による炎症が増悪した可能性が示された。すなわち、T 細胞において Utx は、Treg 細胞への分化を促進し炎症性サイトカインの発現を抑制すること、また、Th 細胞における皮膚向性ケモカイン Ccr4 の発現を制御することが示された。今後は、Jmjd3 KO マウスを用いて同様の研究を行い、Jmjd3 KO マウスが ACD の重症化を呈さなかった原因を Treg 細胞への分化や Ccr4 の発現に着目し検証する予定である。

公開審査会は、令和3年1月14日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した。その後、審査員から本研究に関する以下の質問がなされた。1) Utx KO マウスにおける遺伝子発現、骨髄細胞・血管への影響、2) メチル化の確認、3) ヒトにおける Utx の発現、多型、4) Utx 阻害剤投与による影響、5) 本研究の金属アレルギーなどへの臨床応用、6) Utx KO マウスのアトピー性皮膚炎、乾癬モデルなどへの応用。

上記の質問に対して申請者は的確に応答した。

審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判定した。