

氏名	吉岡 華子		
学位の種類	博士（ 医学 ）		
学位記番号	博甲第 9576 号		
学位授与年月	令和 2 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 44 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	ヒト皮膚 resident memory T 細胞の加齢変化と皮膚疾患への影響		
主査	筑波大学教授	島野 仁	博士（医学）
副査	筑波大学講師	田原 聡子	博士（医学）
副査	筑波大学講師	横山 泰久	博士（医学）
副査	筑波大学講師	千野 裕介	博士（医学）

論文の内容の要旨

吉岡華子氏の博士学位論文は、強皮症、円形脱毛症などの皮膚自己免疫疾患および加齢における皮膚 resident memory T 細胞を解析したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）

ヒト皮膚に一旦皮膚に移行した後、循環に戻らず定着する resident memory T 細胞 (TRM) の分画が存在し、皮膚 T 細胞が異なる動態・機能を有する複数の分画から成り立つことが分かってきた。皮膚以外に腸、肺、脳神経系、腎臓、関節滑膜など、多くの組織が固有の T 細胞叢を有することが判明しており、組織特異的に起こる自己免疫疾患には組織特異的な T 細胞、つまりその組織に留まり続けるレジデントメモリー T 細胞 TRM が関連する可能性がある。著者はこの様な TRM 研究進展の中、本研究で皮膚に生じる自己免疫疾患として、強皮症、円形脱毛症における T 細胞の変化を検討した。

皮膚 T 細胞の構築に関しては、抗原曝露を繰り返す過程で循環から動員され構築されていくことが想定される。著者は伝染性膿痂疹、伝染性軟属腫など皮膚固有の感染症の頻度が就学年齢以上で急速に減少することなどから、組織 T 細胞の構築が抗原応答の獲得と連動し、様々な抗原曝露を繰り返す成長過程で構築されてバリア組織の感染防御に機能するようになると推察した。一方で、一旦構築された後の加齢変化に関しては、皮膚 T 細胞を含む組織 T 細胞の観点からは全く検討されていないという問題があることを指摘している。組織は血中とは異なる固有の T 細胞叢を有することが示されており、皮膚 T 細胞の加齢変化を単純に血中 T 細胞の変化を当てはめて推測できないことは容易に推察されるため、著者は皮膚 T 細胞の加齢変化を直接皮膚 T 細胞の観点から検討することを目的として、密度、多様性、表現型、抗原応答能について血中 T 細胞と比較して評価した。

（対象と方法）

対象として、筑波大学附属病院皮膚科を受診した症例から円形脱毛症患者生検皮膚 17 例、全身性強皮症患者生検皮膚 8 例、皮膚良性腫瘍切除術・植皮術を行った患者の余剰正常皮膚 56 例、血液 41 例を

回収した。著者が共同研究を行っているカロリンスカ研究所皮膚科より、健常人で皮膚良性腫瘍切除術を行った患者の植皮片 25 例、血液 15 例についても解析した。

方法として著者は、T 細胞の数について免疫組織学的に検討し、表面抗原、サイトカイン産生能について T 細胞を単離後に flow cytometry の手法で解析した。また、T 細胞の多様性について検討する目的で T 細胞受容体レパトア解析を行っている。

(結果)

著者は以下の様な結果を得た。

T 細胞数 血中 T 細胞数に有意な差はみられなかったが、免疫組織学的検討で皮膚 T 細胞数は表皮において加齢により有意に増加した。

皮膚 T_{RM} 皮膚より単離した T 細胞分画の加齢変化を flow cytometry で比較検討したところ、CD8 T 細胞において、表皮に留まり続ける T_{RM} (CD49a+CD69+CD103+) の皮膚 T 細胞における割合が高齢になるほど多くなることが分かった。また、皮膚疾患においては、円形脱毛症病変部において健常皮膚と比較して T_{RM} が増数し、それぞれ健常と異なるサイトカインプロファイルを有することが明らかとなったが、全身性強皮症では同分画が正常に構築されることが判明した。

T 細胞受容体レパトア T 細胞受容体レパトア解析は、T 細胞受容体相補性決定領域の遺伝子配列をすべて解読する手法であり、検体中の T 細胞の数、多様性を網羅的に検討できる。著者は様々な年齢層から採取した血液、皮膚よりレパトア解析を行ったところ、血中の T 細胞受容体の多様性は加齢により有意に減少するものの、皮膚 T 細胞受容体の多様性は加齢の過程で維持されることが判明したと結論している。

T 細胞の抗原応答機能 著者は T 細胞の抗原特異的応答を解析する目的で、血液単核球、短期培養した皮膚 T 細胞と加熱処理した黄色ブドウ球菌やカンジダと共培養した。1 週後に増殖細胞の割合や炎症性サイトカインを産生する細胞の割合を flow cytometry にて検討したところ、血中・皮膚ともに抗原刺激による T 細胞増殖能の加齢による変化はみられなかったが、血中 T 細胞では CD4 T 細胞中の IFN γ 、IL-17A 産生細胞の割合が有意に低下するのに対し、皮膚 T 細胞では同分画のサイトカイン産生能が維持されたと結論している。

(考察)

今回、著者は皮膚 T 細胞が加齢により減少せず、むしろ表皮では増加し、表皮に留まり続ける T_{RM}、特に CD49a 陽性 CD8 T_{RM} の分画の割合が増加することが明らかにした。非特異的な反応では、皮膚で CD8 T 細胞が Tc17 から Tc1 へ機能的にシフトしていることが示唆された。CD49a 陽性 CD8 T_{RM} は IFN γ 産生能が高いという既存の報告とも合致し、高齢者では長年の抗原応答により強いエフェクター機能を持つ抗原特異的な CD8 T_{RM} が蓄積されることを推測している。

著者は本研究における、加齢に伴い、表皮 T 細胞数が増加すること、サイトカイン産生能や抗原応答能が保たれること、皮膚 T 細胞受容体レパトアの多様性が維持されること、皮膚における共通クローンが増えること、表皮に多く分布する CD8 T_{RM} の割合が増加すること、という結果を総合すると、T 細胞が皮膚、特に表皮に移行した後、同部位で血中 T 細胞より長期に生存すると推測され、皮膚 T 細胞には血中 T 細胞とは大きく異なる機能保持機構があると推察されるとした。

(結論)

著者はヒト皮膚 T 細胞の加齢変化の動態は血中 T 細胞と異なり、機能や多様性が血中 T 細胞に比して高齢でも維持されると結論している。

審査の結果の要旨

(批評)

自己免疫性疾患を含め様々な疾患の皮膚病態、皮膚疾患の病因におけるヒト皮膚 T 細胞の関与の研究が進む中、著者は、強皮症、円形脱毛症に注目し、皮膚 T 細胞特にレジデントメモリー細胞を解析、その特徴を発見し、疾患治療の標的、方向性を示された点は非常に意義深い。また血中 T 細胞との比較からヒト皮膚 T 細胞の動態の特徴から老化に伴う洞察を加えた点は、今後の皮膚 T_{RM} 研究に貢献すると考える。

令和2年1月14日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。