



Title	CD69 Is Indispensable for Development of Functional Local Immune Memory in Murine Contact Hypersensitivity
Author(s)	仲井, 秀一
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/103191
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	仲井 秀一
論文題名 Title	CD69 Is Indispensable for Development of Functional Local Immune Memory in Murine Contact Hypersensitivity (CD69はマウス接触皮膚炎における機能的局所免疫記憶の発達に不可欠である)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>バリア組織が抗原と遭遇すると局所的な免疫記憶が発達し、抗原の除去後も持続する。組織常在性記憶T細胞 (TRM) はこの局所免疫応答において重要な役割を果たし、抗原再暴露に対する迅速な反応を可能にすることで免疫バリアとして機能する。CD69とCD103は様々な末梢組織のTRMの表面分子マーカーとして使用され、CD69はスフィンゴシン1リン酸受容体1の抑制を通じて、T細胞の末梢組織から循環への流出を阻害する。CD103は上皮細胞で高発現しているE-カドヘリンのリガンドとして、T細胞の組織保持に関与していることが知られている。CD69とCD103が皮膚TRMの発達及び組織常在性に関与していることは報告されているが、皮膚免疫記憶に対する機能的な関与はまだ明らかではない。</p> <p>本研究では、2,4-ジニトロフルオロベンゼン (DNFB) によって引き起こされるマウスの接触性皮膚炎 (CHS) モデルを用いて、CD69とCD103の皮膚免疫記憶に対する寄与を評価した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>実験には、野生型 (WT)、CD69欠損 (CD69K0)、CD103欠損 (CD103K0) マウスを用いた。マウスの腹部を剃毛し、0.5%のDNFBを用いて感作し (-7日目)、0.15% DNFBを用いて右耳を惹起する (0日目) ことでCHSモデルを作成した。耳の腫れが収束した後 (28日目)、耳介に誘導されたTRMを解析するため、3型コラゲナーゼを用いて細胞を単離し、フローサイトメーターを用いて発現分子を解析した。抗原応答性を評価するため、0.15% DNFBにより両耳を再惹起し (28日目)、左耳は初めてのCHS反応、右耳はTRM依存的な耳介腫脹を誘導し (29日目)、29日目までの耳介厚を測定した。リンパ組織における免疫細胞の機能を解析するため、皮膚所属リンパ節又は脾臓から細胞を単離し (0日目)、T細胞の増殖及びサイトカイン産生、樹状細胞の抗原提示能を評価した。皮膚の炎症プロファイル (29日目) を評価するため、耳介からRNAを抽出し定量的PCRにより遺伝子発現解析、パラフィン切片を作成し免疫組織化学染色を行った。特定の実験では、フィンゴリモド (FTY720) をDNFBによる再惹起前の21~28日目に30 μg腹腔内に投与し、抗CD4抗体又は抗CD8抗体、抗CXCR3抗体を19、23、27日目に200 μg腹腔内に投与した。</p> <p>0日目のDNFB惹起により1日目をピークとする右耳の腫脹が生じ、28日目までには炎症が沈静化した。右耳のTRMの割合は、惹起前と比較して皮膚炎沈静化後にCD8では4割から7割に増加し、CD4は変化が認められなかった。DNFBで両耳を再惹起したところ、左耳と比較して右耳で顕著な腫脹を認めた。CD69K0、CD103K0でも同様の検討を行った結果、CD103K0ではWTと差が認められなかったのに対して、CD69K0では再惹起時の右耳の腫脹の減弱を認めた。以上の結果から、CD69を欠損することにより皮膚免疫記憶が減弱していると考え詳細な解析を行った。</p> <p>右耳に誘導されたTRMを解析した結果、CD69欠損によるTRM数又は炎症性サイトカイン産生の変化は認められなかった。次に、リンパ節における免疫細胞の抗原応答性を評価するため、DNFBと同一の抗原性を持つジニトロベンゼンスルホン酸 (DNBS) でT細胞と樹状細胞を刺激した結果、CD69欠損による樹状細胞の抗原提示能及び共刺激能に対する影響は小さいことが明らかとなった。耳介腫脹におけるTRMと循環T細胞の役割を明らかにするため、FTY720により再惹起前にT細胞をリンパ節に隔離し再惹起時の耳介腫脹を評価した結果、CD69K0ではFTY720投与により両耳とも腫脹の抑制傾向が認められた。CD69K0は循環T細胞が再惹起時の耳介腫脹に関与していることが推察されたため、循環CD4又はCD8 T細胞の寄与を明らかにするため、各T細胞除去抗体を再惹起前に投与し、再惹起時の耳介腫脹を評価した。その結果、CD69K0ではCD8 T細胞を枯渇させることで左耳の腫脹が減弱し、両耳の腫脹はCD8 T細胞枯渇後も同程度であった。更に、抗CXCR3抗体を用いてTRM細胞の機能を阻害すると、WTでは再惹起時の右耳の腫脹が左耳と同程度に低下したが、CD69K0では両耳の腫脹に影響を及ぼさなかった。このことから、CD69K0での再惹起時の耳介腫脹には循環するCD8 T細胞が寄与していることが明らかになった。CD69欠損による皮膚全層での免疫反応への影響を評価するため遺伝子発現解析を行った結果、再惹起時のCD69K0の右耳では単球遊走に関わるCxc11及びCxc12の発現減少が認められた。また、免疫組織化学染色を行った結果、再惹起時のCD69K0の右耳ではF4/80陽性のマクロファージの浸潤が減少していることが明らかになった。以上の結果から、CD69K0における再惹起時の耳介腫脹低下は、機能的TRM細胞の確立や局所記憶応答誘発時の炎症性マクロファージの誘導など、局所免疫記憶の発達障害によって説明できることを示唆している。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>これらの研究結果は、CD69が機能的な局所免疫記憶の発達、特に機能的なTRMの誘導と局所記憶応答に不可欠であることを示唆している。CD69を標的とすることによる局所免疫記憶反応の制御は、様々な組織特異的な疾患状態を調節するための新しい戦略に繋がる可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		仲井 秀一	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	藤 井 秀一
	副 査	大阪大学教授	久保 百貴
	副 査	大阪大学教授	松岡 悠美
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本論文は、バリア組織の局所免疫応答において重要な役割を果たす組織常在性記憶T細胞（TRM）について、表面分子マーカーのCD69とCD103の皮膚免疫記憶に対する機能的な関与を検討したものである。野生型、CD69欠損、CD103欠損マウスを用いた接触性皮膚炎モデルの解析の結果、CD69を欠損することにより皮膚免疫記憶が減弱することを見出した。CD69を欠損することにより局所記憶応答誘発時の炎症に対するTRMの寄与は小さくなり、循環CD8 T細胞が大きく関与することを明らかにした。また、単球遊走に関わるCxc11及びCxc12が発現減少し、F4/80陽性のマクロファージの浸潤が減少することを見出した。これらの研究成果は、CD69が機能的な局所免疫記憶の形成に重要であることを明らかにしたものであり、CD69を標的とした局所免疫記憶反応の制御が様々な組織における抗原排除及び疾患再発を調節する新しい治療戦略に繋がることが期待され、学位論文に値すると認めた。</p>			