

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19076

研究課題名(和文)アトピー性皮膚炎は何故繰り返し同じ部位で発症するのか？

研究課題名(英文)Why does atopic dermatitis often relapse in the same skin region?

研究代表者

村田 暁彦(Murata, Akihiko)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号：90624221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎が繰り返し同じ部位で再発する理由をマウスを用いて解析し、炎症を一度経験し治癒した皮膚には、局所的な免疫記憶が形成され、抗原の再暴露時にその部位だけ非常に激しい炎症反応を呈するという現象を見出した。この反応は、炎症を経験した皮膚局所に長期間留まる、抗原特異的な組織常在性記憶T細胞(TRM)により担われていた。抗原の再暴露後の皮膚の解析から、活性化したTRMが、インターフェロンを含む炎症性サイトカインを迅速に大量に産生することで、皮膚局所の免疫記憶の反応が生じていると示唆された。よってアトピー性皮膚炎の再発を防ぐためには、TRMを皮膚から除去することが必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The reason why atopic dermatitis often relapses in the same skin region is unclear. By using a mouse model, we found that the skin that had experienced inflammation and cured showed an accelerated inflammatory response upon reexposure to the same antigen. This 'local skin memory (LSM)' response involved tissue resident memory T cells (TRM cells) that remained in the inflammation-experienced skin for a long time. Analyses of the antigen-reexposed skin showed that the initiation of the LSM response involved inflammatory cytokines including interferon secreted from the activated TRM cells. Thus, these results suggest that the removal of TRM cells from the inflammation-experienced skin region will be needed to prevent the relapsing of atopic dermatitis.

研究分野：免疫学

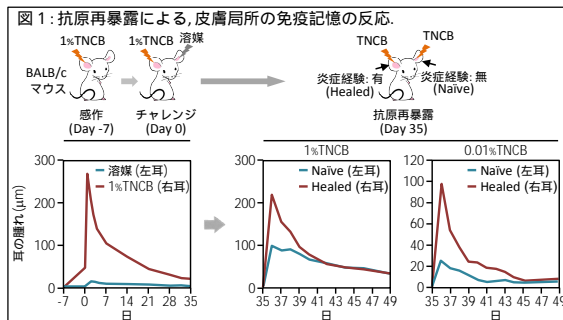
キーワード：アトピー性皮膚炎 接触性皮膚炎 組織常在性記憶T細胞 皮膚局所の免疫記憶

1. 研究開始当初の背景

なぜアトピー性皮膚炎は繰り返し同じ部位で発症するのか、その分子細胞学的な機構は不明である。

私は、ハプテン抗原(1%TNCB)の塗布による BALB/c マウス耳介の接触性皮膚炎をモデルとして用い、アトピー再発の機構を研究していた。その過程で、炎症を一度経験し自然治癒した皮膚と、同一個体内の炎症未経験の皮膚に抗原を再暴露すると、炎症経験のある皮膚の方がより激しい炎症を呈することを見出した(図 1)。炎症未経験の皮膚がほとんど反応しない低濃度の抗原(0.01%)に再暴露した時でさえ、炎症経験のある皮膚は著しい炎症を生じた(図 1)。この現象は、炎症を経験した皮膚には、抗原感受性の上昇を伴う「局所的な免疫記憶」が形成されることを示唆していた。この皮膚局所の免疫記憶により、抗原に再暴露された時、炎症経験のある部位だけが激しく反応する結果、アトピーが同じ場所で繰り返し再発するのではないかと考えられた。

皮膚局所の免疫記憶を担う免疫細胞の種類は現在不明である。炎症が治癒した皮膚を解析したところ、アレルギー性炎症に関与する免疫細胞であるマスト細胞の数が2倍に増加し、数か月に渡りその状態が維持されていた。この観察から、アトピー性皮膚炎の局所的な再発には、炎症を経験した皮膚局所で増加したマスト細胞が形成する「局所的な免疫記憶」が関与しているのではないかと仮説を立て、本研究で検証を行った。



2. 研究の目的

皮膚局所の免疫記憶の機構を、局所で増加するマスト細胞の観点から明らかにすることを当初の目的とした。

3. 研究の方法

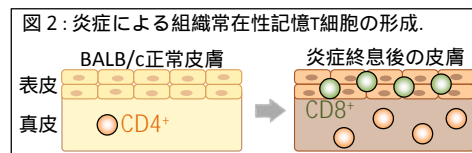
皮膚局所の免疫記憶の実態を明らかにするため、1%TNCBの塗布による皮膚炎が5週間を経て終息した後、皮膚に残存している免疫細胞の種類を特定した。また、どの細胞が局所の免疫記憶の中核を担うのかを特定するため、特定の細胞群を欠損する遺伝子変異マウスの炎症反応を解析した。

4. 研究成果

(1) 炎症経験のある皮膚における、抗原再暴露時の著しい炎症反応(皮膚局所の免疫記憶

の反応)へのマスト細胞の関与を明らかにするため、マスト細胞を欠損する BALB/c-Kit^{W-sh/W-sh} マウス(RIKEN BRCより導入)の炎症反応を解析した。当初の仮説では、局所の免疫記憶の反応はマスト細胞欠損マウスでは消失すると考えていた。しかし、実験してみると、マスト細胞欠損マウスでも野生型マウスと同等かそれ以上の強い炎症反応が観察された。この結果は、マスト細胞は皮膚局所の免疫記憶の反応に必要な細胞ではないことを示しており、当初の仮説は間違っていたと判明した(学会発表)。

(2) では、どの免疫細胞が皮膚局所の免疫記憶の反応を担っているのか? 炎症終息後の皮膚切片を免疫染色で解析したところ、炎症未経験の皮膚に比べ、獲得免疫系の細胞である T細胞の数が顕著に増加していることを新たに見出した。CD4⁺ヘルパー T細胞は真皮中で増加し、CD8⁺キラー T細胞は主に表皮中に集積していた(図 2)。これらの細胞は炎症終息後少なくとも 30 週間局所で維持されていた(学会発表)。



(3) 炎症を経験した皮膚局所に長期間留まる T細胞の関与を明らかにするため、C.B17 SCID マウス(T/B細胞欠損マウス)、BALB/c-Foxn1^{nu/nu} マウス(胸腺由来 T細胞欠損マウス)、BALB/c-DO11.10 マウス(体内のほとんどの T細胞が、卵白アルブミン抗原に反応する CD4⁺ヘルパー T細胞になっている遺伝子改変マウス)の炎症反応を解析した。これらのマウスのハプテン抗原による炎症を経験し治癒した皮膚は、抗原の再暴露時に、炎症未経験の皮膚と同程度の弱い炎症反応しか示さなかった(学会発表)。

更に、野生型 BALB/c マウスから単離したリンパ節細胞(T/B細胞を含む)を、皮膚局所の免疫記憶が見られない BALB/c-DO11.10 マウスに養子移入した。すると、ハプテン抗原再暴露時の、炎症経験のある皮膚の著しく強い炎症が観察された。よって、皮膚局所の免疫記憶の反応は、皮膚局所に留まる、胸腺由来の T細胞が担っていることが示唆された。

(4) 近年、皮膚へのウイルス感染において、炎症終息後の皮膚に長期間残存し、ウイルス再感染時に迅速に防御を行う新しい記憶 T細胞サブセットが発見され、組織常在性記憶 T細胞と名付けられた。この細胞は表面マーカーとして CD103 と CD69 を発現すると報告されている。

ハプテン抗原による炎症を経験した皮膚に長期間留まる T細胞が、組織常在性記憶 T細胞であるかどうかを、フローサイトメトリ

一解析により検討した。皮膚から単離したほとんどの CD4⁺ヘルパーT 細胞と CD8⁺キラーT 細胞は、CD103 と CD69 を共に発現していた。よって、皮膚局所の免疫記憶を担う主体の細胞は、組織常在性記憶 T 細胞であると示唆された(学会発表、)。

(5) 抗原の再暴露時に、活性化した組織常在性 T 細胞からどんな物質が放出されることで、強い炎症反応が生じるのか？抗原を再暴露した後、炎症経験のある皮膚と無い皮膚を経時的に採取し、皮膚組織全体のメッセンジャーRNA を抽出し、種々の炎症性サイトカインの発現を PCR 解析した。すると、抗原再暴露後 1.5 時間で、炎症経験のある皮膚ではインターフェロン γ (IFN γ)の発現が、炎症経験がない皮膚に比べ顕著に亢進していた。他の炎症性サイトカイン(TNF、IL-1 β)の発現は IFN γ に遅れて発現が亢進した。よって、皮膚局所の免疫記憶の反応は、抗原の再暴露により活性化された組織常在性 T 細胞が大量の IFN γ を放出することが引き金になっているのではないかと考えられた(学会発表)。

まとめ

本研究の結果から、アトピー性皮膚炎が局所で繰り返す理由は、1) 炎症を経験した場所に組織常在性記憶 T 細胞が存在するようになることで皮膚局所の免疫記憶が形成され、2) その場所の抗原感受性が上昇し、わずかな量の抗原にも過敏に反応するようになってしまうこと、が原因である可能性が新たに浮上した。よって、アトピー性皮膚炎の局所での再発を防止するために、炎症を経験した場所の組織常在性記憶 T 細胞を除去する、またはその活性化を抑制するといった新たな治療法が考えられる。

マスト細胞の検討で研究期間のかなりの時間を費やしてしまったため、残念ながら期間内に本研究に関する論文の掲載には至らなかった。しかし、皮膚局所の免疫記憶という現象の全体像を捉えることができたのは大きな前進であり、今後解決すべき問題を洗い出すこともできた。アトピー性皮膚炎の再発に対する新たな治療法を世に送り出すため、本研究の成果を元に更に研究を進展させていく所存である。

尚、本研究期間中に、多細胞動物の誕生と接着分子 Notch に関する総説(雑誌論文)、アレルギーに關与する IgE 産生の調節機構に関する論文()を公表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Hikosaka M, Murata A, Yoshino M, Hayashi SI. Correlation between cell

aggregation and antibody production in IgE-producing plasma cells. *Biochem. Biophys. Rep.* 10: 224-231, 2017. 査読有

彦坂茉莉, 村田暁彦, 吉野三也, 林眞一. 抗原特異的細胞の凝集による IgE 産生制御. *臨床免疫・アレルギー科* 65: 334-339, 2016. 査読無

Murata A (corresponding author), Hayashi SI. Notch-mediated cell adhesion. *Biology(Basel)* 5: 5, 2016. 査読有

[学会発表](計9件)

Murata A, Yoshino M, Hayashi SI. Local skin memory response in contact dermatitis involves tissue resident memory T cells. 第46回日本免疫学会総会・学術集会, 2-G-W23-2-O/P, 2017年12月12-14日, 仙台国際センター(宮城)

Yoshino M, Suekane K, Suzuki A, Honda N, Tanigawa K, Murata A, Hayashi SI. Measurement of the transport of skin self-antigens under inflammatory conditions. 第46回日本免疫学会総会・学術集会, 2-I-W25-14-P, 2017年12月12-14日, 仙台国際センター(宮城)

Murata A, Yoshino M, Hikosaka M, Hayashi SI. C57BL/6 mice lack the local skin memory formation by contact dermatitis. 第45回日本免疫学会総会・学術集会, 3-D-W29-3-O/P, 2016年12月5-7日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄)

Yoshino M, Murata A, Hikosaka M, Suekane K, Suzuki A, Honda N, Hayashi SI. Measurement of altered transport of skin self-antigens in the active state. 第45回日本免疫学会総会・学術集会, 1-B-W3-11-P, 2016年12月5-7日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄)

Hikosaka M, Murata A, Yoshino M, Hayashi SI. Enhancement of antibody production in IgE producing cells requires cell aggregation via Fc gamma-receptors. 第45回日本免疫学会総会・学術集会, 3-D-W28-4-O/P, 2016年12月5-7日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄)

Murata A, Yoshino M, Hikosaka M, Hayashi SI. Intensity of local skin memory response varying with the types of locally persisting T cell subsets. 16th International Congress of Immunology, Oral presentation #2430, 21-26 August 2016, Melbourne Convention and Exhibition Centre (Melbourne)

Murata A, Yoshino M, Hikosaka M, Hayashi SI. Mast cells are dispensable for the local skin memory response. 第44回日本免疫学会総会・学術集会, 1-C-W3-8-P, 2015年11月18-20日, 札幌コンベンシ

ンセンター(北海道)

Yoshino M, Murata A, Hikosaka M, Suda T, Hayashi SI. Analysis of the transport of skin self-antigens in *pynod-Ccr7*-double knockout mice. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会, 3-C-W36-10-P, 2015 年 11 月 18-20 日, 札幌コンベンションセンター(北海道)

Hikosaka M, Murata A, Shimoda Y, Yoshino M, Hayashi SI. Antigen-mediated cell aggregation in IgE-producing cells. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会, 3-C-W36-10-P, 2015 年 11 月 18-20 日, 札幌コンベンションセンター(北海道)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

鳥取大学医学部生命科学科分子細胞生物学講座免疫学分野のページ
(<http://www.med.tottori-u.ac.jp/immunol/307/>)

鳥取大学医学部生命科学科、お知らせ欄
(<http://www.med.tottori-u.ac.jp/introduction/lifesciences/life-science.html>)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村田 暁彦(MURATA, Akihiko)

鳥取大学・医学部・助教

研究者番号:90624221

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし