

令和 3 年 5 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08295

研究課題名(和文)新規に同定したバリア関連遺伝子による表皮ストレス応答機構の解明

研究課題名(英文)A new barrier-related gene encoding epithelial stress-induced peptide

研究代表者

大日 輝記(Dainichi, Teruki)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：20423543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚の生体防御反応の新たな機序を探索するため、4種類の異なるアトピー性皮膚炎モデル動物の皮膚のトランスクリプトーム解析を行い、共通して表皮で誘導性に高発現するただ1つの未知の遺伝子を同定した。この遺伝子を「epithelial stress-induced peptide (ESIP)」と名付けた。正常ヒト表皮細胞にESIP発現プラスミドまたは対象プラスミドを遺伝子導入し、トランスクリプトーム解析を行った。また、翻訳産物や遺伝子欠損動物を用いてESIPの機能解析を行った。その結果、ESIPが表皮で誘導性に発現し表皮のストレス応答に機能すること、表皮の生体防御機能を直接制御する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ESIPが上皮ストレス応答のマスターレギュレーターであり、多様な臨床像を示すアトピー性皮膚炎の慢性炎症を決定づける表皮由来因子である可能性を考えた。これまでアトピー性皮膚炎などの慢性の炎症性皮膚疾患の治療標的は免疫細胞が主体であった。本研究成果により、全身の皮膚を覆う組織である表皮が、これらの皮膚疾患の新しい治療標的となる可能性を提案できる。

研究成果の概要(英文)：The epidermis is involved in barrier, innate and adaptive immunity of the skin. We found that up-regulation of an orphan gene was shared in the skin with different, many types of inflammation. We named this molecule epithelial stress-induced peptide (ESIP). The human orthologue gene product was highly expressed in the epidermis of atopic dermatitis or psoriasis. ESIP gene transfection into normal human epidermal keratinocytes induced expression of inflammatory mediators, and gene ontology analyses showed its association to barrier formation.

研究分野：皮膚科学

キーワード：表皮 炎症 バリア アトピー性皮膚炎 乾癬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

表皮は生体の最外層を覆う上皮組織であり、生体防御の最前線に位置する。表皮は生体防御の3つの階層、すなわち「自然免疫」「獲得免疫」「バリア」の全てに関わることで、病原体や毒物などの外的危険因子から生体を守っていると考えられている。皮膚は様々な外的危険因子に対して最適な反応を各階層に引き起こし、結果として極めて合目的に危険因子の排除に働く。炎症性皮膚疾患の多くはこれらの防御的、修復的反応を一部模倣するため、その仕組みを知ることには、皮膚感染症だけではなく、炎症性皮膚疾患の理解や治療提案にもつながると考えられる。

上皮は外的因子に最初に出会う組織である。物理的なバリアとしてだけでなく、各種の生理活性物質の放出を通して、自然免疫や獲得免疫の方向づけにも関与する。例えば、表皮由来ペプチドの LL-37 は、幅広い抗菌活性により病原体に直接作用するとともに、核酸と結合して作用し、好中球や樹状細胞の活性化、獲得免疫の始動に関与する。また、上皮由来のインターロイキン (IL)-1 や C-X-C motif ligand 1 (CXCL1) が炎症の先駆けとなること、thymic stromal lymphopoietin (TSLP) や 血清アミロイド A (SAA) が各々Tヘルパーリンパ球 2 (Th2) 型免疫、Th17 型免疫に関わることは皮膚以外の臓器でも知られている。

しかしながら、表皮が、外界の様々な性質の危険因子に対する最適な生体防御反応の構築にどの程度関与するのは、一部の分子経路については詳細な研究が進んでいるものの、いまだに全体像が完全に明らかにされていない。

皮膚の生体防御反応の新たな機序を探索するため、4種類の異なるアトピー性皮膚炎モデル動物の皮膚のトランスクリプトーム解析を行った結果、共通して表皮で誘導性に高発現するただ1つの未知の遺伝子を同定した。予備検討結果により、この遺伝子の翻訳産物が抗菌作用を持つ可能性、ヒトの表皮細胞で炎症性サイトカインの発現を制御する可能性、またバリア機能を調節する可能性を見出し「epithelial stress-induced protein (ESIP)」と名付けた。

2. 研究の目的

ESIP の翻訳産物が多彩な病型を呈するアトピー性皮膚炎の共通の因子と仮説を立てた。

本研究の目的は、ESIP が抗菌作用を持つ可能性、表皮細胞で炎症性サイトカインやケモカインの発現を制御する可能性、またバリア機能を調節する可能性について検証することである。

3. 研究の方法

ESIP の発現プラスミドを作成し、正常ヒト表皮細胞 (NHEK) に遺伝子導入し、トランスクリプトーム解析を行った。ESIP の C 末端は系統的に保存されている。この C 末端を欠くものを不活性化型 ESIP、完全長のもを活性化型 ESIP として、*in vitro*, *in vivo* で機能解析を行った。また、ESIP 遺伝子を欠損するマウスを B6 マウスに 10 世代以上戻し交配し、乾癬、アトピー性皮膚炎、およびバリア障害の動物モデルを適用し、表現型解析を行った。

4 . 研究成果

ESIP 発現プラスミドを遺伝子導入した NHEK は、対照プラスミドを遺伝子導入した NHEK に比べて、*IL1B*, *IL6*, *CXCL1* などの炎症制御因子の発現が促進した。また、Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) パスウェイ解析で、mitogen-activated protein kinase (MAPK) などのシグナル伝達に促進的効果をもつこと、翻訳・タンパク合成、エネルギー代謝、コレステロールなどの脂質代謝に抑制効果をもつことが示された。さらに、転写因子エンリッチメント解析で、ストレス応答遺伝子の転写に関わる heat shock transcription factor (HSF)-1 関連遺伝子の発現促進、I 型インターフェロン応答遺伝子の転写に関わる STAT2 関連遺伝子の発現抑制にはたらくことが示された。

ESIP ペプチドを用いた解析で、活性化型 ESIP、および不活性化型 ESIP をマウスの耳介皮膚に局所注射し、耳介厚の経時的変化を評価するとともに、炎症性メディエーターの転写を評価した。活性化型 ESIP 投与群で有意な耳介主張を認め、一部のメディエーターの発現亢進を認めた。

ESIP 欠損マウスではイミキモド塗布による乾癬様皮膚炎が減弱した。また、MC903 塗布によるアトピー様皮膚炎は有意な差を認めなかった。テープストリッピングによるバリア障害からの修復を経表皮水分喪失量で経時的に評価したが、野生型と有意な差を認めなかった。

以上の研究結果より、ESIP が表皮で誘導性に発現し表皮のストレス応答に機能すること、表皮の生体防御機能を直接制御する可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Dainichi T, Nakajima S, Iwata M, Kabashima K	4. 巻 140
2. 論文標題 Net Effects of NETs: New Concepts.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 939-941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2019.12.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Katsuo Kosuke, Kaku Yo, Tahara Jumpei, Yamashita Chisato, Endo Yuichiro, Egawa Gyohei, Dainichi Teruki, Kabashima Kenji	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Venous leg ulcers associated with abdominal aortic aneurysm	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ijd.14836	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Komatsu Fujii T., Honda T., Tahara J., Yamashita C., Oguma T., Dainichi T., Kabashima K.	4. 巻 34
2. 論文標題 Efficacy of intravenous immunoglobulins for laryngopharyngeal lesions and upper airway obstruction in epidermolysis bullosa acquisita	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 e131-e133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.16080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa M., Goto K., Kanameishi S., Dainichi T., Kabashima K., Tanabe H.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Pemphigus vulgaris in a recipient and pemphigus foliaceus in a donor after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation between two siblings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.16289	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komatsu Fujii T., Dainichi T., Kaku Y., Murata T., Nomura T., Kabashima K.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Anti laminin 1 pemphigoid with IgE autoantibodies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.16259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tahara Jumpei, Kaku Yo, Takimoto Ito Riko, Irie Hiroyuki, Endo Yuichiro, Egawa Gyohei, Dainichi Teruki, Kabashima Kenji	4. 巻 47
2. 論文標題 Amelanotic melanoma of the nail apparatus with regression previously diagnosed as melanoma of unknown primary site with a lymph node metastasis: A case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e36-e38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15158	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dainichi Teruki, Nakano Yuri, Wakae Kousho, Otsuka Masayuki, Muramatsu Masamichi, Kabashima Kenji	4. 巻 28
2. 論文標題 APOBEC3 regulates keratinocyte differentiation and expression of Notch3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1341 ~ 1347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.14019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hanakawa Sho, Kitoh Akihiko, Shibuya Rintaro, Dainichi Teruki, Nomura Takashi, Honda Tetsuya, Egawa Gyohei, Otsuka Atsushi, Nakajima Saeko, Fujita Mitsugu, Kabashima Kenji	4. 巻 144
2. 論文標題 Percutaneous sensitization is limited by in situ inhibition of cutaneous dendritic cell migration through skin-resident regulatory T cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1343 ~ 1353.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.05.033	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakurai K, Dainichi T, Garcet S, Tsuchiya S, Yamamoto Y, Kitoh A, Honda T, Nomura T, Egawa G, Otsuka A, Nakajima S, Matsumoto R, Nakano Y, Otsuka M, Iwakura Y, Grinberg-Bleyer Y, Ghosh S, Sugimoto Y, Guttman-Yassky E, Krueger JG, Kabashima K.	4. 巻 144
2. 論文標題 Cutaneous p38 mitogen-activated protein kinase activation triggers psoriatic dermatitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1036 ~ 1049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.06.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ono Sachiko, Egawa Gyohei, Nomura Takashi, Kitoh Akihiko, Dainichi Teruki, Otsuka Atsushi, Nakajima Saeko, Amagai Masayuki, Matsumoto Fumi, Yamamoto Mami, Kubota Yoshiaki, Takai Toshiyuki, Honda Tetsuya, Kabashima Kenji	4. 巻 10
2. 論文標題 Abl family tyrosine kinases govern IgG extravasation in the skin in a murine pemphigus model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12232-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Honda Yuki, Ono Sachiko, Honda Tetsuya, Kataoka Tatsuki R., Egawa Gyohei, Kitoh Akihiko, Otsuka Atsushi, Nakajima Saeko, Nomura Takashi, Dainichi Teruki, Kabashima Kenji	4. 巻 144
2. 論文標題 Murine neonatal skin mast cells are phenotypically immature and minimally sensitized with transplacentally transferred IgE	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 617 ~ 620.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.05.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Irie H, Dainichi T, Kaku Y, Kabashima K	4. 巻 99
2. 論文標題 Progressive Erythroderma without Malignancy in the Skin: A Quiz	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Dermato Venereologica	6. 最初と最後の頁 841 ~ 843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2340/00015555-3206	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii Hiroko, Endo Yuichiro, Dainichi Teruki, Otsuka Atsushi, Fujisawa Akihiro, Tanioka Miki, Miyachi Yoshiki, Kabashima Kenji	4. 巻 46
2. 論文標題 Predictive factors of response to pulse methylprednisolone therapy in patients with alopecia areata: A follow up study of 105 Japanese patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 522 ~ 525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14871	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dainichi Teruki, Matsumoto Reiko, Mostafa Alshimaa, Kabashima Kenji	4. 巻 10
2. 論文標題 Immune Control by TRAF6-Mediated Pathways of Epithelial Cells in the EIME (Epithelial Immune Microenvironment)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.01107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Dainichi Teruki, Kitoh Akihiko, Otsuka Atsushi, Nakajima Saeko, Nomura Takashi, Kaplan Daniel H., Kabashima Kenji	4. 巻 19
2. 論文標題 The epithelial immune microenvironment (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 1286 ~ 1298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-018-0256-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dainichi Teruki, Kabashima Kenji	4. 巻 5
2. 論文標題 Interaction of Psoriasis and Bullous Diseases	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmed.2018.00222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Reiko, Dainichi Teruki, Tsuchiya Soken, Nomura Takashi, Kitoh Akihiko, Hayden Matthew S., Ishii Ken J., Tanaka Mayuri, Honda Tetsuya, Egawa Gyohei, Otsuka Atsushi, Nakajima Saeko, Sakurai Kenji, Nakano Yuri, Kobayashi Takashi, Sugimoto Yukihiko, Kabashima Kenji	4. 巻 3
2. 論文標題 Epithelial TRAF6 drives IL-17-mediated psoriatic inflammation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 1~14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.121175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata Teruasa, Honda Tetsuya, Egawa Gyohei, Yamamoto Yasuo, Ichijo Ryo, Toyoshima Fumiko, Dainichi Teruki, Kabashima Kenji	4. 巻 8
2. 論文標題 Transient elevation of cytoplasmic calcium ion concentration at a single cell level precedes morphological changes of epidermal keratinocytes during cornification	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-24899-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komori Takaya, Dainichi Teruki, Otsuka Atsushi, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke, Ishida-Yamamoto Akemi, Kabashima Kenji	4. 巻 45
2. 論文標題 Mild dystrophic epidermolysis bullosa associated with homozygous gene mutation c.6216+5G>T in type VII collagen ultrastructurally suggestive of the decreased number of anchoring fibrils	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e305~e306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14337	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komori Takaya, Dainichi Teruki, Masuno Yuka, Otsuka Atsushi, Nakano Hajime, Sawamura Daisuke, Ishida-Yamamoto Akemi, Kabashima Kenji	4. 巻 45
2. 論文標題 p.Glu477Lys mutation in keratin 5 is not necessarily mortal in generalized severe epidermolysis bullosa simplex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e209~e210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大日 輝記
2. 発表標題 アトピー性皮膚疾患と epithelial-immune microenvironment (EIME)
3. 学会等名 第68回日本アレルギー学会学術大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenji Sakurai, Teruki Dainichi, Sandra Garcet, Soken Tsuchiya, Yoichiro Iwakura, Sankar Ghosh, Yukihiro Sugimoto, Emma Guttman-Yassky, James G. Krueger, Kenji Kabashima
2. 発表標題 Topical p38 MAPK Activation Induces Psoriatic Dermatitis
3. 学会等名 Keystone Simposia, Skin Health and Disease: Immune, Epithelial and Microbiome Crosstalk (D4), Hannover, Germany (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Teruki Dainichi, Yuri Nakano, Kousho Wakae, Masayuki Otsuka, Masamichi Muramatsu, Kenji Kabashima
2. 発表標題 APOBEC3 regulates NOTCH3 expression and keratinocyte differentiation
3. 学会等名 International Investigative Dermatology Meeting 2018, Orlando, Florida (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	梶島 健治	医学部・教授	
	(Kabashima Kenji)	(14301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	川上 英良 (Eiryō Kawakami)	情報統合本部・チームリーダー (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
シンガポール	A*STAR			
デンマーク	University of Copenhagen			