

令和 2 年 6 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16047

研究課題名(和文)皮膚脂質が乾癬の病態に及ぼす影響の検討

研究課題名(英文)The role of skin lipid in the pathogenesis of psoriasis

研究代表者

井上 紗恵 (Inoue, Sae)

筑波大学・附属病院・病院助教

研究者番号：60816528

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、乾癬における皮膚resident memory T細胞の機能異常に関して、脂質代謝の観点から検証した。乾癬皮膚resident memory T細胞ではfatty acid binding protein (FABP) 5の発現が健康皮膚resident memory T細胞より高まっており、脂肪酸代謝が亢進している事がわかった。FABP4はFABP5と比較し有意ではなかった。乾癬皮膚T細胞と健康皮膚T細胞を単離して行ったRNA-seq解析より、脂質代謝に関わる酵素の発現が乾癬T細胞において上昇傾向にあった。特定の脂肪酸によるFABP5発現やIL-17産生の抑制は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾癬は30代と比較的低年齢での発症が多い慢性疾患であり、皮膚症状、関節症状などにより社会的生活が著しく脅かされる場合が多く、また、近年開発が進む生物学的製剤が有効である一方で治療継続が必須であるため医療費負担のインパクトも極めて大きい。本研究では、乾癬皮膚resident memory T細胞の脂肪酸取り込みが亢進していることが判明し、また、脂肪酸代謝関連酵素の発現上昇も示唆された。このことから、脂肪酸取り込みを抑制するような酵素阻害剤の外用で乾癬皮膚resident memory T細胞の機能異常を是正できる可能性が示唆され、簡易な外用による新規治療の開発に近づいたといえる。

研究成果の概要(英文)：The involvement of skin resident memory T cells in the pathogenesis of psoriasis was investigated from the aspect of fatty acid metabolism. Resident memory T cells from psoriatic skin upregulated the expression of FABP5 compared to those from healthy control skin. The difference of FABP4 expression was not obvious. RNA-seq analysis suggested the augmented expression of enzymes related to lipid metabolism in psoriatic skin resident memory T cells compared to those from healthy controls. We were not able to define the specific fatty acids which could downregulate the expression of FABP5 and it is suggested that generally augmented uptake of fatty acid correlated to the upregulation of FABP5 in psoriatic T cells.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：乾癬 皮膚T細胞

1. 研究開始当初の背景

(1) 乾癬とメタボリック症候群

炎症性角化症の代表的疾患である乾癬は、欧米では人口の2~3%の罹患率を有し、本邦ではその頻度は欧米より低いものの、約0.4%が罹患していると推察される一般的な皮膚疾患である。近年、乾癬には過体重者が多いこと、糖尿病、高血圧、高脂血症などを伴うメタボリック症候群の合併が多いことが判明し、実際に乾癬患者において心血管系リスクが高く、乾癬皮疹の重症度と心筋梗塞発症リスクが相関することも報告されている。こういった症例では、食物制限や運動などで体重減少を図ることにより乾癬の皮膚症状が改善すること、また同じ治療でも効果が出やすくなることが実臨床の場でしばしば経験され、乾癬の皮膚症状に脂質代謝が密接な関係を有することが想定される。

(2) 乾癬とメタボリック症候群に共通する因子

2010年に本邦で乾癬に対する生物学的製剤が承認され、以来現在までにTNF、IL-12/23、IL-17A、IL-17受容体Aの四種類の分子を標的とした生物学的製剤が使用されるようになった。乾癬の治療はパラダイムシフトを迎えたと言われ、同時に、特定の分子を標的とした治療から、さらに乾癬の詳細な病態が明らかにされるようになった。例えば、TNFは、乾癬の皮疹形成カスケードの上流と下流双方で重要な役割を有するサイトカインであると同時に、肥満において肥大した脂肪細胞から分泌される炎症性アディポカインの一種であることも知られており、TNFを阻害することにより、乾癬患者の皮疹だけでなく脂肪細胞由来の炎症カスケードも遮断することができるため、心血管系イベントのリスクも下げられる。このように、脂肪組織の乾癬病態への関わりについて分子レベルでも解明が進められているが、その機序はまだ不明の点が多い。

(3) 皮膚 resident memory T細胞を介した乾癬と皮膚脂質の関係

申請者の研究グループは、皮膚T細胞に関する研究を行っており、特に、一旦皮膚に移行した後循環に戻ることなく皮膚に留まり続ける皮膚のmemory T細胞分画(resident memory T細胞: T_{RM})に着目して皮膚疾患における T_{RM} の機能異常の検討を行っている。乾癬においては、この T_{RM} のうち、表皮優位に分布する $CD69^+CD103^+CD8^+T_{RM}$ が、一見正常に見える非病変部にも多く分布しており、この T_{RM} 分画が既に乾癬の特徴であるIL-17産生傾向を呈することが申請者の研究グループでの研究から明らかになった。この皮膚 T_{RM} に関して、脂質と結びつく新しい観点からの報告が本年2017年になされた(Pan Y et al, *Nature*, 2017)。Panらによると、皮膚 T_{RM} が、他のmemory T細胞分画と異なり、遊離脂肪酸を取り込みプロセスすることで脂肪酸をATP合成のエネルギー源として用いることで長期生存を可能としていると考えられる。具体的には、遊離脂肪酸を細胞内でプロセスするfatty acid binding protein 4/5 (FABP4/5)の発現が他のmemory T細胞と比較して $T_{RM}CD8^+T$ 細胞に優位に高まっており、これらを欠損した細胞の長期生存が妨げられることから、FABP4/5の発現が T_{RM} の維持にとって必須であると報告されている。従って、乾癬皮膚がFABP5発現を亢進させるような皮膚脂肪酸組成を有する可能性、乾癬皮膚の $CD8^+T_{RM}$ がFABP5を介して皮膚からの遊離脂肪酸取り込みを亢進させ、その結果 T_{RM} の長期生存やサイトカイン産生偏位がもたらされる可能性が考えられる。しかし、前述の通り、乾癬における脂質異常の報告は血中脂質やバリア機能上重要な脂質の観点から研究されたものに限られており、皮膚 T_{RM} を介した脂肪酸と乾癬の関係について検証されていない。

2 . 研究の目的

本研究の目的は、皮膚 T_{RM} を軸として脂質代謝異常と乾癬の関係を明らかにすることであり、特に脂肪酸代謝と乾癬の関わりを探究したいと考える。この研究を遂行できれば、脂質代謝異常がどのようにして乾癬の病態形成に関与するかを明らかにすることができ、皮膚 T_{RM} と脂肪酸代謝をターゲットとした完全に新しい治療介入法につながることを期待される。近年乾癬には上述の生物学的製剤、免疫抑制剤や免疫調整剤が使用されているが、これらの薬剤はいずれも高額であり、患者自身の経済的負担はもちろんのこと、国・都道府県レベルでの医療費補助額の高騰を招いている。本研究の観点から、脂肪酸代謝をターゲットとした外用剤の開発も見込まれ、高騰する医療費の削減にも結び付く可能性がある。

3 . 研究の方法

(1) 乾癬皮膚・血液脂質構成の解析

乾癬患者より書面で同意を取得したうえで血液と乾癬病変部皮膚・非病変部皮膚を採取し、委託にてメタボローム解析を行う。同様に皮膚良性腫瘍や表皮内悪性腫瘍の切除、植皮を受ける症例より、余剰の健常皮膚が生じる場合に、書面で同意を取得したうえで余剰皮膚を採取し、上述と同様にメタボローム解析を行う。この結果を乾癬皮膚のメタボローム解析結果と比較し、乾癬皮膚において発現が上昇あるいは低下している脂質分画を探究する。

(2) 乾癬皮膚 T 細胞の脂質代謝異常の解析

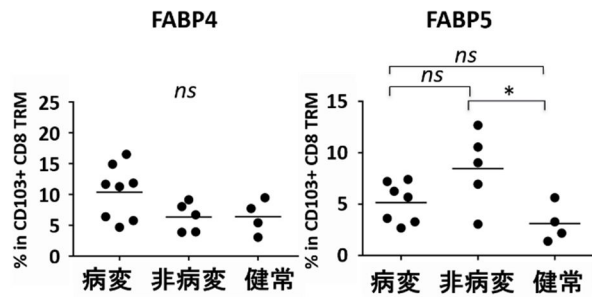
乾癬病変部、非病変部の皮膚 CD8 T_{RM} における FABP5 発現を健常人皮膚 CD8 T_{RM} の FABP5 発現と比較検討する。採取した皮膚検体を短期培養することで皮膚 T 細胞を単離し、T 細胞マーカー、CD69、CD103 といった皮膚 T_{RM} マーカー、FABP5 に対する蛍光標識抗体で染色し、flow cytometry で解析することで、乾癬患者と健常人における皮膚 CD8 T_{RM} の FABP5 発現に相違がないか比較検討する。5 症例ずつの検体収集を目指す。乾癬患者と健常人で T 細胞 FABP5 発現に差が見出された場合、単離した乾癬患者皮膚 T_{RM} を、上述のメタボローム解析で差を見出された脂質分子を補正した培養液中で培養し、FABP5 発現が正常化するかを経時的に追う。

4 . 研究成果

乾癬病変部、非病変部、健常皮膚のメタボローム解析に関しては、残念ながら検体による違いが非常に大きく、脂肪酸構成の差を見出すことができなかった。現在、乾癬病変部・非病変部、健常皮膚において、RNA-seq 解析を行い、脂質代謝に関わる遺伝子発現の相違を比較検討している。有意差は得られていないが、3 例ずつの解析で、乾癬非病変部 T 細胞と病変部 T 細胞における酵素遺伝子の発現に相違がある傾向が得られており、今後検討の蓄積を重ねていく。

皮膚 CD8 T_{RM} における FABP4/5 発現を、乾癬病変部・非病変部・健常皮膚より単離した CD103 陽性 CD8 T_{RM} において flow cytometry で検討したところ、乾癬非病変部 T 細胞において、健常皮膚 T 細胞より有意に高い FABP5 発現が確認された(図 1)。一方で、FABP4 発現は 3 群で有意な相違を認めなかった。

図 1: 乾癬病変部・非病変部・健康皮膚より単離した T 細胞を CD3, CD8, CD103 抗体で表面染色、FABP4, FABP5 抗体で細胞内染色し、flow cytometry にて T_{RM} における FABP4/5 の発現を比較した。* $p < 0.05$



脂質分析から安定した結果が得られなかったため、T 細胞の TRM 分化に影響を及ぼす脂肪酸を in vitro の実験系で確認した。図 2 のように、HaCaT 細胞と、血中 T 細胞を共培養する系において、各種脂肪酸を添加し、HaCaT 細胞に結合した (Attached に該当する) T 細胞数、T_{RM} マーカー発現を比較したところ、パルミチン酸を添加した際に CD8 T 細胞の HaCaT 細胞への結合が低下する傾向があることが推察された (図 3)。

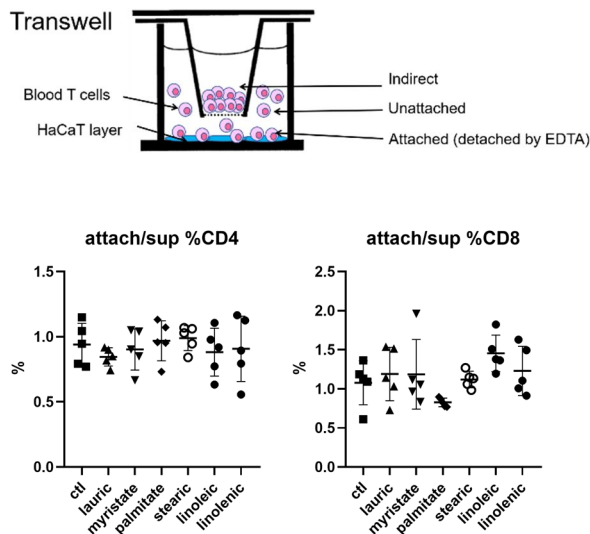


図 2: Transwell を用いた血中 T 細胞と HaCaT 細胞の共培養系。図の Indirect、Unattached の T 細胞と比べ、Attached の T 細胞が CD103、CD69 といった T_{RM} マーカーを強発現することから、in vitro T_{RM} として解析した。

図 3: 図 2 の培養系に脂肪酸を添加し、Indirect T 細胞 (sup) と HaCaT 細胞に結合した Attached T 細胞の割合を求めた。培地にパルミチン酸を添加した場合に、CD8 T 細胞の HaCaT 細胞への結合が低下する傾向が得られた。

そこで、パルミチン酸添加群と非添加群における HaCaT 結合 T 細胞の FABP5 発現を flow cytometry で比較したが、有意な FABP5 発現の差は認めなかった。一方、通常の T 細胞培地からカラムにより脂肪酸を全て除いた培地を用いて T 細胞を短期培養すると、FABP5 発現が通常培地を用いた場合と比較して低下する傾向があり、今後、種類によらない脂肪酸供給量が T 細胞の FABP5 発現に及ぼす影響を明らかにしていきたいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----