

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16072

研究課題名(和文)皮膚システム病理解析による各アトピー性皮膚炎層別化集団の皮膚炎症動態の解明

研究課題名(英文) Dynamics of inflammation in each subgroup of atopic dermatitis by systemized immunohistochemistry of skin tissue

研究代表者

関田 愛子 (Sekita, Aiko)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・特別研究員

研究者番号：10804289

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)：アトピー性皮膚炎(AD)では、皮膚バリア機能異常を起点として皮膚組織における免疫反応の過剰な活性化により皮膚炎をひき起こすが、免疫反応の経路は患者後ごとに多様性をもつことが示唆されている。近年、ADの個別化医療の確立を目指して血液バイオマーカー等に基づく患者の層別化が試みられているものの、患者ごとの皮膚組織レベルでの炎症動態については十分に解明されていない。本研究では、臨床的観点から層別化されたADサブグループについて皮膚組織の病理学的解析を通して複数の炎症動態パターンを見出し、皮膚組織内の各免疫細胞の相互作用の違いが臨床的に異なる性質をもつ皮疹の形成に關与している可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ADは遺伝的要因と環境要因が複雑に組み合わさって発症に至る複合疾患であり、臨床的特徴においても非常に多様性に富んだ疾患であるにも関わらず、これまでは患者全体に一律の治療が適用されてきた。現在、サイトカインレセプターなどを標的とした複数の分子標的薬が臨床適用あるいは開発段階にあり、近い将来には治療選択の機会が増えると考えられる。患者ごとの皮膚組織における炎症動態の多様性の理解は、複数の治療薬の中から患者に適した治療を選択する際の判断基準の一端をなすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：In Atopic dermatitis (AD), it has been suggested that there are a wide variety of endophenotypes in which immune reactions are abnormally upregulated among patients. Although attempts have been made to stratify patients based on their endophenotypes with the aim to establish personalized medicine, heterogeneity in tissue level dynamics of inflammation in each patient remains elucidated. In this study, we conducted systemized histological analysis including detection of ten types of immune cells on skin tissue biopsy from AD patients. Several patterns of immune cell infiltration were found in clinically stratified AD subgroups, suggesting that difference in interactions between immune cells lead to the formation of differentially characterized dermatitis in AD patients.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：アトピー性皮膚炎 炎症動態 病態の多様性 免疫細胞 皮膚組織病理

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎(AD)では、皮膚バリア機能異常を起点として皮膚組織における免疫反応の過剰な活性化により皮膚炎をひき起こす。この免疫反応の経路は患者後ごとに多様性をもつことが示唆されている。近年、ADの個別化医療の確立を目指して、血中サイトカイン等のバイオマーカー探索とこれに基づく患者の層別化が試みられているものの、各ADサブグループの皮膚組織レベルでの炎症動態については十分に解明されていない。ADの治療薬として複数の分子標的薬が開発段階にあるなど、今後ADの治療において多くの選択の機会が与えられると考えられるが、より適切な治療を選択するためには、患者ごとの組織レベルの炎症動態を明らかにすることが重要である。

2. 研究の目的

本研究では、AD患者の皮膚組織の病理学的解析により患者ごとの皮膚組織における炎症動態を明らかにすることを目的とした。特に臨床的意義の探索のため、临床上の特徴から層別化される患者グループ、すなわち血中サイトカインあるいは皮疹性状の観点から層別化されたADサブグループについて皮膚組織内の免疫細胞の分布を詳細に解析し、サブグループごとにどのような免疫細胞の働きが皮疹形成に関与しているのかを明らかにした。さらに、同一患者の病理データと皮膚組織トランスクリプトームデータを紐づけることにより、各サブグループにおける皮膚組織における炎症制御に関わる分子レベルの特徴の抽出を目指した。

3. 研究の方法

患者ごとの皮膚組織における免疫制御の多様性を明らかにするためには、種々の免疫細胞の分布を包括的に把握する必要がある。本研究では、AD患者100例の病変部および非病変部の皮膚組織に対して10種類の免疫細胞(CD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞、好中球、好酸球、好塩基球、マスト細胞、ランゲルハンス細胞、CD11c陽性真皮樹状細胞、CD206陽性マクロファージ、CD56陽性NK細胞)の免疫組織化学染色を実施した。これを、細胞種ごとに定義したスコア法に基づき評価し、血中サイトカインあるいは皮疹性状の観点から層別化されたADサブグループについて各免疫細胞の浸潤パターンおよびケラチノサイトの状態を解析した。さらに、同一患者の病理データと皮膚組織RNA-seqデータを統合することにより各ADサブグループにおける皮疹形成の分子的制御についての理解を目指した。

4. 研究成果

(1) 皮膚組織への細胞浸潤の評価方法の確立

皮膚組織は、大まかには表皮と真皮よりなるが、これに加えて血管、毛包、脂腺、汗腺といった付属器が体の部位に応じて一定の密度で存在している。近年、こうした付属器にリンクした皮膚免疫制御が示唆されているが、実際、アトピー性皮膚炎患者の皮膚組織においても、ある特定の付属器周辺に特定の免疫細胞が集積するといった傾向が見られた。1mm径の皮膚パンチバイオプシーサンプルの場合、3-5mm程度の生検サンプルに比べて、単位体積内における細胞浸潤の評価の際には付属器の存在の有無が大きく影響する。そこで、本研究ではまず、皮膚組織における付属器の存在を加味した細胞浸潤度合いの評価法を確立した。すなわち、皮膚組織内で毛細血管等からどれほど離れたところにまで細胞が遊走しているか、といった観点で細胞種ごとにその組織内の分布を4段階で評価するスコア法を定義した。

(2) 血中サイトカインの観点から層別化されたADサブグループの病理学的解析による特徴づけ

これまでの関連研究により血清/血漿サイトカインに基づいたAD患者の層別化を試みてきたが、中でも血清CCL17の値が高い患者群において特徴的な細胞浸潤パターンが認められた。CCL17はTARCとも呼ばれ、アトピー患者における全身の皮疹の重症度と比較的よく相関することが既に知られている。しかしながら、CCL17低値であって皮疹の重症度の高い患者群が見られることから、完全に皮疹の強弱だけを反映するパラメータではなく、AD患者の炎症パターンと関連する層別化因子の一つであると考えられる。本研究の患者群においては、CCL17高値の患者でCD4陽性T細胞、好中球、CD11c陽性真皮樹状細胞等の免疫細胞の浸潤が増大する傾向にあることが明らかとなった。CCL17は主に皮膚で産生され全身でメディエータとなっていると考えられるが、CCL17高値の患者群の皮膚組織では、これらの免疫細胞間でCCL17をはじめとしたシグナルを介した相互作用が起きた結果、皮膚炎が形成されることが示唆された。一方、CCL17低値の患者においてはマスト細胞浸潤が強い患者群、CD206陽性マクロファージ浸潤が強い患者群とさらにいくつかのパターンに分かれることを見出した。

(3) 皮疹性状の観点から層別化された AD サブグループの病理学的解析による特徴づけ

皮疹性状に基づいたサブグループの解析においては、紅斑、丘疹、掻爬/浮腫の3種類の皮疹性状それぞれに特徴的な細胞浸潤パターンを見出した。なかでも、紅斑と丘疹に関しては、皮疹重症度の指標の一つである表皮肥厚の度合いが同程度である患者同士間の比較が可能であったことから、2群を対比させることでそれぞれの特徴を抽出した。

紅斑型皮膚炎の炎症部位

位では、CD4 陽性 T 細胞を中心とした免疫細胞がびまん性に分布する傾向にあり、とりわけ真皮のみならず表皮へのリンパ球浸潤が認められた。さらに、表皮内におけるランゲルハンス細胞の活性化が顕著であった。これに対し、丘疹型皮膚炎の炎症部位では、免疫細胞が結節様に分布しており、表皮への浸潤は弱い傾向にあった。(図1)

さらに、同一患者の病理データと皮膚組織 RNA-seq データを統合したところ、この2つの患者群は、皮膚組織における遺伝子発現においても異なるパターンを示すことが明らかとなった(図2)。特に2群間での発現量の差の大きい遺伝子に着目すると、その多くが好中球、好酸球、マクロファージで発現する遺伝子であったことから、皮膚組織における抗原提示細胞や顆粒球等の各免疫細胞の相互作用とそれに続くシグナル経路の違いが紅斑および丘疹という性質の異なる皮疹の形成に関与している可能性を示した。

掻爬/浮腫に関しては、同一患者の非掻爬/浮腫部位と比較して、表皮においてセラチノサイト同士の間隙が拡大する(海綿状態)と同時に、免疫細胞の浸潤が全体的に増大する傾向が認められた。

さらに、AD 様皮膚炎を自然発症するモデルマウスである Spade マウスにおける掻爬/浮腫の皮疹と、AD 患者の掻爬/浮腫の皮疹を、病理像および RNA-seq データの双方において比較解析した。その結果、皮膚組織における細胞浸潤パターンと遺伝子発現パターンの両方で類似性が認められたことから、掻爬/浮腫の皮疹形成ではヒトとマウスとの間で共通した炎症反応経路が働いていることが示唆された。

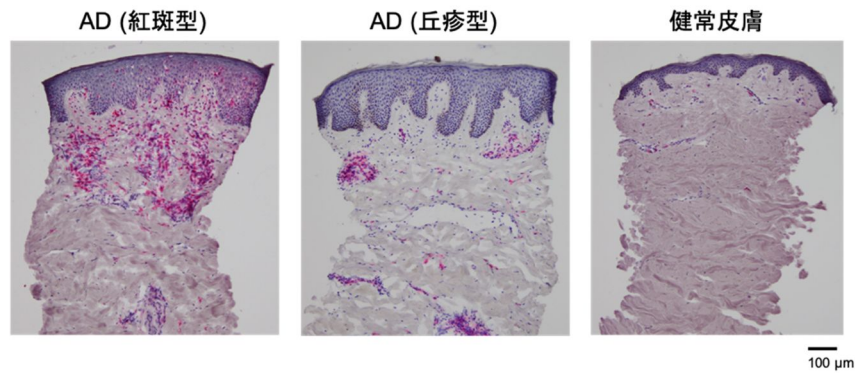


図1. AD 患者の皮膚組織病理像 (赤色: CD4)

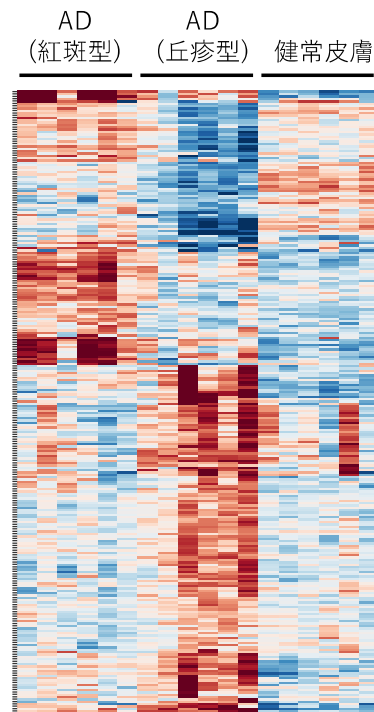


図2. AD 患者病変部皮膚および健全皮膚の遺伝子発現のパターン

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1 . 発表者名 Aiko Sekita, Hiroshi Kawasaki, Eiryu Kawakami, Ayano Fukushima, Shoko Obata, Tamotsu Ebihara, Masayuki Amagai and Haruhiko Koseki
2 . 発表標題 Association of JAK-STAT signaling activity with immune cells infiltration in skin tissue in patient with atopic dermatitis
3 . 学会等名 6th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Aiko Sekita, Hiroshi Kawasaki, Ayano Fukushima, Koichi Ashizaki and Haruhiko Koseki
2 . 発表標題 Potential longitudinal biomarkers for assessing therapeutic response to systemic cyclosporine A treatment in patients with atopic dermatitis.
3 . 学会等名 6th Annual European Congress on Clinical and Translational Medicine (国際学会)
4 . 発表年 2019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