

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17503

研究課題名(和文)慢性皮膚炎による腸内細菌叢の変化と炎症性腸疾患との関連性の解明

研究課題名(英文)Understanding the relationship between chronic dermatitis mediated dysbiosis in the gut microbiota and inflammatory bowel disease

研究代表者

原田 洋輔(Harada, Yosuke)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：50725968

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):皮膚疾患である乾癬と炎症性腸疾患が合併する背景には腸内細菌のdysbiosisの関与が存在するという仮説を考え、動物実験モデルで機序の解明を試みた。IMQ皮膚炎マウスにおいてDysbiosisが引き起こされ、とくにLactobacillusの著明な減少が認められた。さらに同マウスの腸内細菌を単離し、各種Ig抗体の結合を調べたところIgM陽性細菌が減少していた。皮膚炎と腸管の炎症悪化を媒介する因子として血液を介した液性因子の関与を考え、併体結合により血液交換をしたマウスペアの一方のみにIMQ皮膚炎を誘導し、移行したB細胞を調べたところ液性因子の影響による所見は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回申請者が提唱する腸内細菌の変化を包含した乾癬と腸炎の間にある皮膚-腸相関では、腸内細菌の変化が腸炎の発症に影響しており、臨床応用として乾癬に合併するIBDに対する、腸内細菌をターゲットとした新たな治療法の開発につながる可能性があると考えます。また、実際の乾癬患者における腸内細菌叢の変化にはIBD患者の腸内細菌叢の変化と一部の共通点が報告されているが、乾癬患者におけるdysbiosisが実際にcolitogenicなものであるとすれば、ヒトにおいても同様の皮膚-腸相関が存在することを示唆し、ヒトにおける検討及び臨床応用に向けた研究が今後の課題といえる。

研究成果の概要(英文):We hypothesized that dysbiosis of intestinal bacteria may be involved in the complication of psoriasis, a skin disease, and inflammatory bowel disease, and tried to elucidate the mechanism in an experimental animal model. IMQ dermatitis mice exhibit a marked reduction of Lactobacillus. Furthermore, we examined binding of various Ig antibodies on the intestinal bacteria of these mice and IgM-positive bacteria were decreased. We considered the involvement of blood-borne humoral factors as a mediator of the exacerbation of inflammation in the dermatitis and intestinal tract. We induced IMQ dermatitis in only one of the mouse pairs that exchanged blood by parabiosis and examined migrating B cells and found no evidence of humoral factors.

研究分野:免疫学

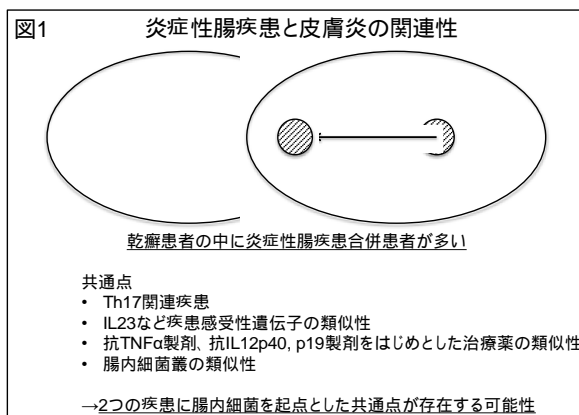
キーワード:炎症性腸疾患 乾癬 腸内細菌叢 糞便移植 腸管免疫

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乾癬は皮疹を伴う慢性の皮膚の疾患で欧米に多く見られていたが、近年は食生活を始めとする生活習慣の欧米化に伴い日本でも患者数が増加しており、推計 10 万人以上といわれている。皮膚の樹状細胞 (DC) が活性化すると、IL-23 を分泌することでナイーブ T 細胞を Th17 細胞へと分化させる。Th17 細胞によって分泌された IL-25 は表皮細胞に作用し、上皮細胞の過形成を促すことで皮膚炎を惹起することがわかっている。

乾癬と IBD が臨床的に合併することが知られている (IBD 2017; *J Am Acad. Dermatol.* 2012; *AJG* 1990)。これら 2 疾患は Th17 関連疾患であり、*Il-12b* や *Il-23r* という共通疾患感受性遺伝子、抗 TNF $\alpha$  製剤・抗 IL-23/p40, p19 抗体製剤の有効性 (*Arthritis Rheumatol.* 2015; *JCC* 2016)、さらに 2 つの疾患における腸内細菌が類似していることも報告されている (*JCC* 2017, 図 1)。



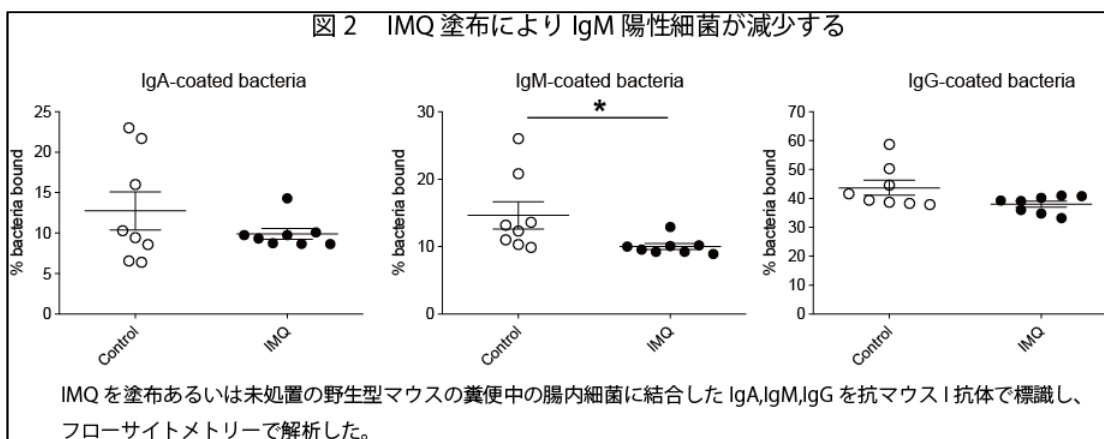
2. 研究の目的

本研究では皮膚炎による腸内細菌叢の変化の動作原理を解明すること、すなわち、①腸管 IgM 陽性 B 細胞減少による *Lactobacillus* 属減少メカニズムの解明、②皮膚炎による腸管内 B 細胞減少の機序解明 (液性因子、非液性因子の検討) を目的とした。

3. 研究の方法

イミキモド (IMQ) 塗布により皮膚炎を発症させたマウス糞便中の IgM/IgG/IgA 結合腸内細菌をフローサイトメトリーで解析し、コントロールマウスと比較した。コンジェニックマウスを利用し併体結合を施したマウス的一方に IMQ を塗布する。10 日ほどでお互いの血流交換が行われていることを確認のうえ Ly5.1 側に皮膚炎を誘導し、Ly5.1/5.2 各々の腸内細菌叢、腸管 IgM 陽性細胞を検討する。

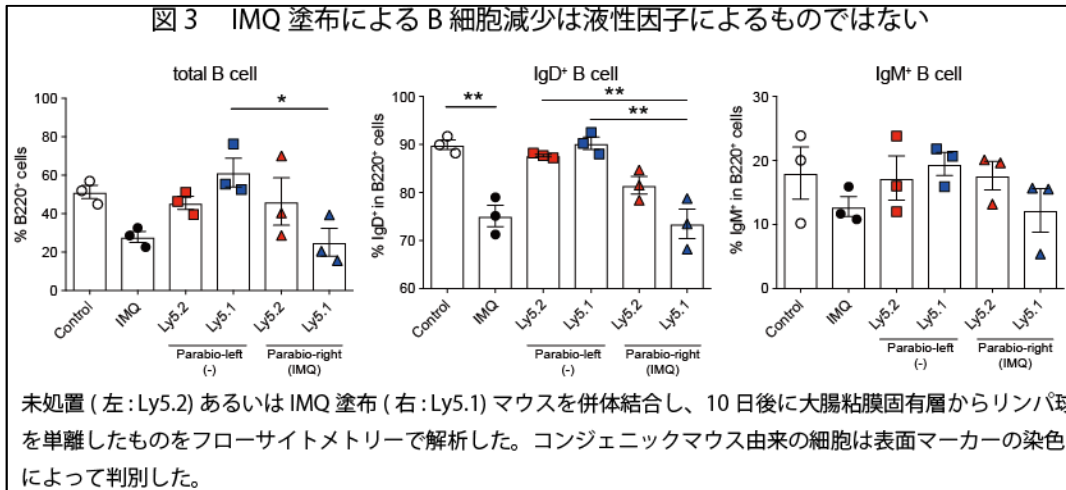
4. 研究成果



分泌型 IgM が欠損したマウスにおいては大腸炎が増悪することが報告されている (*Immunity* 36: 228-238, 2012)。しかし、IgM が腸内細菌をどのように制御しているかは IgA と比較し明らかにされていない (*Nat. Microbiol.* 1: 1-11, 2016)。申請者は、IMQ 塗布の有無により IgM が結合した腸内細菌に違いがないかを評価した。IgA、IgG が結合した腸内細菌は IMQ 皮膚炎により変化しなかったが、IgM 結合腸内細菌が IMQ 皮膚炎マウスで減少していた (図 2)。本実験では単離した腸内細菌に対して野生型マウスから得られた血清を添加することで飽和させたため、十分に結合に足る IgM が存在していたと考えられる。IMQ 皮膚炎マウスでは、腸管の IgM 陽性 B 細胞が減少することがわかっていたが、他方で IgM 結合細菌が減少する現象の原因はわからない。IMQ 皮膚炎による dysbiosis に起因する IgM 結合型細菌の減少によるものかもしれない。

これまでに IMQ 皮膚炎は TLR7 依存性に起きることが知られており、申請者も TLR7KO マウスで IMQ 皮膚炎を誘発したが、軽度皮膚炎がおきるのみで腸管 IgM 陽性 B 細胞減少は認められなかった。一つの可能性としてサイトカインを中心とした血中物質の関与が示唆される。申請者は、コンジェニックマウスを利用し併体結合を施したマウス的一方に IMQ を塗布し、10 日

図3 IMQ 塗布による B 細胞減少は液性因子によるものではない



未処置 (左: Ly5.2) あるいは IMQ 塗布 (右: Ly5.1) マウスを併体結合し、10 日後に大腸粘膜固有層からリンパ球を単離したものをフローサイトメトリーで解析した。コンジェニックマウス由来の細胞は表面マーカーの染色によって判別した。

ほどでお互いの血流交換が行われていることを確認のうえ Ly5.1 側に皮膚炎を誘導し、Ly5.1/5.2 各々の腸管 B 細胞のプロファイルを検討した。IMQ 皮膚炎マウスでは IgD、IgM 陽性 B 細胞が大腸で減少することが知られており、実際に IMQ 塗布の IgD 陽性 B 細胞減少効果は併体結合に影響されることなく各個体で認められた。さらに、血液の交換により他個体に移行した B 細胞に着目すると、IMQ または未処置由来の B 細胞は移行した先の個体の B 細胞に似たプロファイルを示した (図 3)。今回の実験では IgM 陽性 B 細胞での有意差を得られなかったが、もう一つの指標となる IgD 陽性 B 細胞の挙動を見るに、IMQ 皮膚炎に伴う腸炎悪化の機序に血流を介した液性因子は関与していないと考えられる。

乾癬様皮膚炎により腸管内の IgA は変化を認めないにも関わらず、腸管における IgM、IgD 陽性 B 細胞が減少し、腸内細菌叢が変化する詳細なメカニズムは不明である。既報では IgM クラススイッチに異常をきたす C3KO マウスでは DSS 腸炎が増悪することが示されており、Naïve B 細胞の放出する IgM、IgD についても一部バクテリアを認識するという報告がされている。IgM、IgD が腸管内でのいわゆる悪玉菌を制御しており、腸管内 IgM、IgD 減少が悪玉菌制御を解除し 2 次的に *Lactobacillus* の減少を引き起こしているという可能性がある。腸内細菌叢がなぜ変化するのか、腸管内免疫担当細胞の変化と腸内細菌叢の変化との相関関係については明らかでなく、今後さらなる検討が必要である。

さらに、今回の研究結果からは皮膚炎のシグナルを媒介する因子として液性因子が関与する可能性は低いと考えられる。しかし依然として non-hematopoietic 細胞を介して皮膚シグナルが腸管免疫細胞を制御している可能性がある。近年皮膚のシグナルがアナフィラキシーにも関与することも示されており (Castillio J, *Immunity* 2019)、皮膚の神経ネットワークが腸管に影響を及ぼしている可能性を強く示唆している。

今回申請者が提唱する腸内細菌の変化を包含した乾癬と腸炎の間にある皮膚-腸相関では、腸内細菌の変化が腸炎の発症に影響しており、臨床応用として **乾癬に合併する IBD に対する、腸内細菌をターゲットとした新たな治療法の開発につながる可能性がある** と考える。また、実際の乾癬患者における腸内細菌叢の変化には IBD 患者の腸内細菌叢の変化と一部の共通点が報告されているが、乾癬患者における dysbiosis が実際に colitogenic なものであるとすれば、ヒトにおいても同様の皮膚-腸相関が存在することを示唆し、ヒトにおける検討及び臨床応用に向けた研究が今後の課題といえる。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------