

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16164

研究課題名（和文）アトピー性皮膚炎の発症をもたらす代謝・内分泌系異常の解明

研究課題名（英文）Investigation of metabolomic/endocrine dysfunction that triggers the onset of atopic dermatitis

研究代表者

宮井 智浩（MIYAI, Tomohiro）

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・研究員

研究者番号：30812549

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）：先行研究で、アトピー性皮膚炎（AD）モデルマウスにおいてホルモンタンパク質Xの異常な分泌亢進が認められることを見出している。本研究では、ADにおけるXの作用機序の解明を目指した。その結果、XがADの発症に対して促進的に寄与することが示され、X依存性の全身性代謝異常がAD病態に寄与している可能性が示唆された。さらにヒトAD患者において血漿中のXの量を測定したところ、36検体中7検体で異常な高値を認めた。さらにXの血中量と血液検査データの相関解析を行ったところ、肝臓で代謝される分子群との強い相関を認めた。これらの結果より、血中Xの高いAD患者は肝臓に異常をもつ特徴的な病態を呈していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎（AD）は遺伝的要因と幅広い環境要因の双方が発症に寄与する多因子疾患であり、患者間でこれらの要因の組み合わせは大きく異なることから、その発症メカニズムも多様性をもつことが指摘されている。これが原因となり、依然として寛解に導く治療法は確立しておらず、個別化医療の実現に大きな期待がかけられている。本研究において、血中のX高値を呈するAD患者群が見出され、その特徴として肝臓で代謝される分子の血中量の異常が認められることを明らかにした。このことより、この特徴的な患者群に対してXを標的とした分子介在が奏功する可能性が考えられ、ADに対する個別化医療の実現に大きく貢献すると期待される。

研究成果の概要（英文）：In my previous study, I found that abnormal hypersecretion of the hormone protein X was observed in a mouse model of atopic dermatitis (AD). In this study, we aimed to elucidate the mechanism of action of X in AD. The results showed that X contributes to the pathogenesis of AD in a facilitative manner, suggesting that X-dependent systemic metabolic abnormalities may contribute to the pathogenesis of AD. Furthermore, I measured the amount of X in plasma from human AD patients. I confirmed abnormally high levels of X in 7 out of 36 samples. In addition, the correlation analysis between the blood levels of X and blood test data showed a strong correlation with a group of molecules metabolized in the liver. These results suggest that AD patients with high blood levels of X have a characteristic pathology associated with abnormalities in the liver.

研究分野：皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎 代謝 多臓器関連

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis, AD) は強いかゆみと再発性の湿疹病変を特徴とする慢性難治性の皮膚炎である。AD の発症には遺伝的要因と、食生活を含む幅広い環境要因の双方が引き金になっていると考えられるが、その病態多様性の複雑さに起因して分子レベルのメカニズム理解は十分ではない現状である (Weidinger & Novak, *Lancet*. 2016、Bieber et al. *J Allergy Clin Immunol*. 2017)。

申請者はシグナル伝達分子 Jak1 の活性亢進型変異を有する AD モデルである Spade (Stepwise, progressive atopic dermatitis) マウスを用い、炎症の発症前に局所で起こっている変化の検出を試みた。すると、ほとんどの細胞種では大きな変化が見られなかった一方、CD31 陽性の血管内皮細胞においてのみ性質の変化が認められた。その詳細を見ると、野生型では全く発現の見られない遺伝子 X が Spade マウスの血管内皮細胞で極めて高く発現しており、それに伴って血中の X タンパク質量も高値を示した。同様の現象は MC903 塗布による AD モデルマウスにおいても確認された。ヒト AD 患者においても解析を行った患者総数のおよそ 1/5 が血中 X の高値を示すことを確認している。X は内分泌ホルモン様の作用を有するタンパク質であり、その発現異常に伴って幅広い物質の生体内恒常性が破綻することが報告されている。すなわち、**炎症の発症前より内分泌系の恒常性が破綻しており、さらにこれまで内分泌組織として認識されていない血管内皮からホルモンが産生されう**という想定外の知見を得た。これまでにヒト AD において X の寄与は報告されていないが、一方でゲノムワイド関連解析 (GWAS) 研究より、X の制御標的分子の活性化および不活化酵素遺伝子の変異と AD との関連が報告されている。しかし、これまで疫学的に X の制御標的分子と AD との関連を調べた報告は多数あるが、結論は論文により様々であり一定の決着を見ていない。

2. 研究の目的

本提案研究では、「**X を介する内分泌系の異常は AD 病態に対してどのように作用するのか?**」という問いに対して細胞・分子生物学的手法を用いてアプローチを試みた。

3. 研究の方法

(1) 血管内皮細胞特異的 X 欠損 AD モデルマウスの作製および表現型解析

Gene X^{fllox} マウスと血管内皮特異的な Tie2-Cre マウスを交配して血管内皮特異的 X 欠損マウス (*Gene X^{ΔTie2}*) を作製した。これと Spade モデルの交配、もしくは MC903 の耳介への塗布によって AD 様の炎症を誘導し、その表現型を解析した。これによって血管内皮細胞からの X の異所性分泌を抑制することが AD 病態にどのような影響を及ぼすか確かめた。

(2) 生化学検査による血清成分の分析

X はホルモン様タンパク質として多様な内分泌調節に関与していることが示されているが、特に X 過剰条件における血中物質の変動は十分に精査されているとはいえない。そこで、Spade モデルの血清を採取し、生化学検査により電解質・微量元素や酵素、脂質関連物質等について定量・比較を行った。

(3) 細胞・分子レベルのメカニズム解明

1)および2)の結果から、AD病態に影響を与えると考えられるXの標的組織・細胞の同定を試みた。具体的には、2)で認められた血中物質の差異から異常を来していると思われる組織を推定し、網羅的遺伝子発現解析によって性状の変化を確かめた。さらに、皮膚組織を酵素的に解離して各細胞種を単離し、RNAシーケンスによって遺伝子の発現変動を確認した。これにより、ADの発症惹起に関与する責任細胞および分子の同定を試みた。

(4) ヒトにおける外挿可能性の検討

われわれはこれまでに慶應義塾大学皮膚科学教室と共同で健常人およびAD患者のマルチモーダルデータを収集してきており、血液検査結果もその内に含まれる。そこで、Xの血中量と血中生化学検査との網羅的相関解析を行い、内分泌系異常をとまなう型のAD患者群の特徴抽出を試みた。

4. 研究成果

(1) 血管内皮細胞特異的X欠損ADモデルマウスの作製および表現型解析

当初の計画通り、*Gene X^{Tie2}*マウスを作製し、Spadeマウスと交配を行なって表現型を解析した。Spadeマウスで認められる耳介組織における皮膚炎の自然発症は血管内皮特異的なXの欠損によって症状の改善が認められた。さらに、*Gene X^{Tie2}*マウスにMC903塗布することにより薬剤誘導性の皮膚炎表現系を確認したところ、こちらもXの欠損によって症状の改善が認められた。すなわち、複数のADモデルで血管内皮特異的なXの欠損によって症状の改善が認められ、XがAD病態に重要な作用をもつことが明らかとなった。

(2) 生化学検査による血清成分の分析

Xが血中に過剰に存在するSpadeモデルの血清の生化学検査を行い、野生型マウスとの比較を行なった。予想通り、Xの制御標的分子は有意な血中量増減を認めた。それに加え、肝臓や腎臓に関連する複数の血中パラメータで血中代謝物量の増減を認めた。

(3) 細胞・分子レベルのメカニズム解明

Spadeモデルの肝臓・腎臓における遺伝子発現をRNAシーケンス解析によって確認したところ、Xに関連する一群の代謝酵素が有意に発現変動していることを見出した。さらに、野生型マウスにおける耳介へのMC903塗布によっても、肝臓・腎臓で同様の遺伝子発現変動が認められ、皮膚-肝・腎間の臓器連関がAD病態形成において重要であることが示唆された。また、耳介組織に存在する各細胞種をソーティングし、Xの受容体遺伝子の発現を確認した。すると、今回検証した全ての細胞種で受容体遺伝子の発現は低く、おそらくXは皮膚局所ではなく肝臓や腎臓等の遠位の組織で作用し、その結果として全身性の代謝物のプロファイルが変化することが皮膚炎病態に影響を及ぼすと考えられた。

(4) ヒトにおける外挿可能性の検討

背景で述べた通り、AD患者総数のおよそ1/5が血中Xの高値を示すことを確認している。本研究では、X高値群においてどのような表現型の特徴をもつのか、臨床病型および

血液検査値を参照して特徴付けを試みた。その結果、X 高値群は AD において一般的に認められる皮膚の赤みが認められず、X 低値群と比較して AD のバイオマーカーとして知られる TARC や IgE の血中濃度が低かったことから、いわゆる「内因型 AD」と呼ばれる AD の病型に類似する表現系を呈することが明らかとなった。さらに、X と血液検査値の各パラメータとの相関を網羅的に解析した結果、X 高値群は ALT/AST とは強い正の相関を、総コレステロールとは強い負の相関を示すことが明らかとなった。この結果より、**肝臓および腎臓に何らかの異常をもつような AD の亜群が患者群の中に一定割合存在すると考えられ、AD モデルマウスから得られた解析結果とも併せて考えると、X を標的とした治療介入がこの患者群に対して有効である可能性が示唆された。**

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyai T., Kawasaki H., Hosokawa M., Matsunaga H., Satoh R., Sekita A., Takeyama H., Amagai M., Koseki H.	4. 巻 140
2. 論文標題 837 Micro-regional transcriptome reveals local dermal-epidermal intercorrelation in atopic dermatitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 S109 ~ S109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2020.03.853	査読の有無 無
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 Miyai T., Kawasaki H., Matsunaga H., Hosokawa M., Sekita A., Takeyama H., Amagai M., Koseki H.	4. 巻 141
2. 論文標題 162 Application of microdissection-based spatial transcriptomics for mechanistic and biomarker investigations in dermatology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 S29 ~ S29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2021.02.182	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Miyai T., Kawasaki H., Matsunaga H., Hosokawa M., Sekita A., Takeyama H., Amagai M., Koseki H.
2. 発表標題 Application of microdissection-based spatial transcriptomics for mechanistic and biomarker investigations in dermatology
3. 学会等名 SID 2021 Virtual Meeting (Society for Investigative Dermatology) (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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