

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16227

研究課題名（和文）皮膚のリンパ濾胞構造が皮膚の異所性リンパ組織 iSALT であるかの検討

研究課題名（英文）Investigation of lymphoid follicle structures in the skin as ectopic lymphoid tissues, iSALT

研究代表者

小亀 敏明 (KOGAME, TOSHIAKI)

京都大学・医学研究科・特定講師

研究者番号：00744111

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）： 公共データをふくめ single cell RNA-sequence (scRNA-seq) データで、皮膚に B 細胞の浸潤が多い疾患（慢性膿皮症など）を解析したところ、J-chain MZB1 等の腸管 B 細胞に特異的な因子を発現した B 細胞を同定した。また、それらをリンパ濾胞過形成を伴う皮膚疾患に加え、炎症性皮膚疾患および皮膚腫瘍サンプルにおいて免疫染色にてスクリーニングを行ったところ、腫瘍近傍の反応性リンパ濾胞を含めリンパ濾胞内に確認した。更にアトピー性皮膚炎や円形脱毛症などリンパ濾胞を伴わない疾患でも MZB1 陽性細胞の浸潤を認めた。今後これらの細胞についての生理学的意義を検討につなげる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、その浸潤数の少なさから皮膚疾患における B 細胞の意義はあまり研究されてこなかった。今回、皮膚に腸型の B 細胞の同定に成功し、更にそれが複数の皮膚疾患に存在する可能性を示した。今後この B 細胞の機能や生理学的意義を明らかにすることで、新規の病態生理の理解や治療への介入の可能性をもっている。また、なぜ腸に分布するはずの B 細胞が皮膚に分布するのかという、医学的意義を超えた生物学的な興味深さも持っている。

研究成果の概要（英文）： we analyzed skin diseases of single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) data including public data repository which include significant B cell infiltration. We identified B cells expressing factors specific to intestinal B cells, such as J-chain and MZB1. Furthermore, screening with immunostaining in skin diseases with lymphoid follicular hyperplasia, inflammatory skin diseases, and skin tumor samples revealed these B cells within lymphoid follicles, including reactive lymphoid follicles near tumors. Additionally, we observed the infiltration of MZB1-positive cells in diseases without lymphoid follicles, such as atopic dermatitis and alopecia areata. We will investigate the physiological significance of these cells in future studies.

研究分野：皮膚科学

キーワード：三次リンパ組織 B細胞 皮膚免疫 MALT iSALT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

MALT に代表される異所性リンパ組織は粘膜組織の局所で獲得免疫の確立に寄与する。皮膚でもあるのだろうか、という疑問から本研究はスタートし、我々の既報の他のヒト疾患でも iSALT の存在を確認した。iSALT は多くの病態に関わっている可能性がある。本研究の真のゴールは iSALT が皮膚局所のみでの反応から獲得免疫機能を発揮できるか明らかにする事である。

2. 研究の目的

成熟した iSALT は胃における MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) 同様に、リンパ節のリンパ濾胞構造と細胞学的にも組織学的にも共通点が多い。よって iSALT 構成細胞はリンパ濾胞に存在する細胞群と類似の性質をもつ可能性が高い。しかしどの細胞が関わって iSALT が形成されるか不明であるため本研究では iSALT の構成細胞群を網羅的に同定することを目指す。このためにマウスモデルを解析ツールとして用いるのも選択肢の一つではあるが、マウスモデルで人工的に誘導できる iSALT は小さく少数のみである。つまり成熟した大きな濾胞構造をもつ iSALT の形成はヒトの疾患でのみ確認されており、マウスモデルでの誘導はまだ成功していない。マウスモデルで人工的に誘導するのが難しい現象をマウスで追及するのではなく、PCMZL のように、iSALT の過剰形成が病態形成の主体と考えられるヒトの疾患で研究を進めるのが本研究の学術的独自性である。得られた個々の iSALT 構成細胞の見地をマウス実験にフィードバックできる創造性も持つ。多重免疫染色と single cell RNA sequence (scRNA-seq) を用いて成熟した iSALT の構成細胞を網羅的に同定する。

3. 研究の方法

iSALT は皮膚局所の獲得免疫機構を想定しているため三次リンパ濾胞 (tertiary lymphoid follicle; TLS) も包含する概念と定義しており、TLS は iSALT の成熟したステージと考えている。当初、皮膚における TLS と考えられるリンパ濾胞の過形成を伴う木村病で scRNA-seq を計画していたが、同 TLS の過形成を伴いやすい疾患での public の scRNA-seq データが利用可能な場合、それを用いて MALT との関連が予想される細胞の検索をおこなう。MALT の構成細胞が確認できた場合は、リンパ濾胞の形成を伴わない皮膚疾患でも同様の細胞が存在するか免疫染色でスクリーニングする。入手可能な scRNA-seq データを用いて、MALT 構成細胞が皮膚疾患のどのような細胞と関連するか検討し、iSALT がどのような疾患にかかわってくるか検討する。MALT に関連する細胞の病変部の浸潤数と臨床賞的特徴の関係を検討する。

4. 研究成果

公共データの化膿性汗腺炎の scRNA-seq データ (Gudjonsson JE. JCI Insight. 2020) で、皮膚に B 細胞の浸潤が多い疾患を解析したところ MZB1 等の腸管 B 細胞に特異的な因子を発現した B 細胞を同定した (図 1)。MZB1 は分泌型の IgA とされる 2 量体型 IgA に発現する分子とされ、腸管に存在する B 細胞に発現することが知られているため、MALT タイプの B 細胞と考えた。

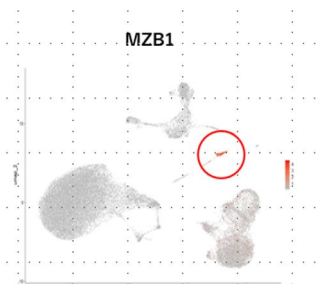


図 1: MZB1 陽性のクラスターを認めた。(赤丸)

次に、リンパ濾胞過形成を伴う皮膚疾患に加え、炎症性皮膚疾患で MZB1 の免疫染色でスクリーニングを行った。円形脱毛症 (alopecia areata; AA) とアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis; AD) に MZB1 陽性細胞を確認した (図 2A) 次に Hyperion で蛋白質レベルの発現を多重染色で確認したところ、MZB1 陽性細胞は CD79a/CD138 を発現しており、形質細胞と考えられた (図 2B)。Public の scRNA-seq データにおいても (AD: Alkon JACI, 2021, AA: Lee EY. PNAS 2023, Ober-Reynolds B. et al. Nat. gen. 2023) MZB1 陽性形質細胞のクラスターが存在し、Jchain や B 細胞系列マーカーを発現していた。よって、これら 2 疾患において、これまで知られていない新規の B 細胞系列を同定したと考えられた。

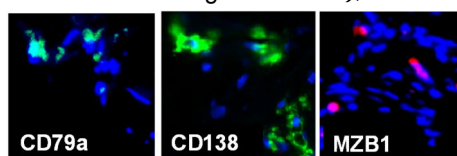


図 2A: AA 病変部において B 細胞系列のマーカーに加え MZB1 を発現する細胞を認めた。

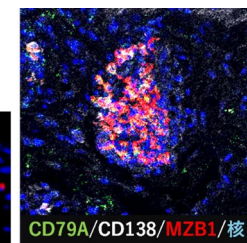


図 2B: 同病変部を Hyperion で解析し MZB1/CD138/CD79a 共陽性細胞を認めた。

円形脱毛症ではほぼ全症例に MZB 陽性細胞が存在して

いたのに対して、アトピー性皮膚炎 28 例中半数程度はごく少数であったのに対して、4 例には 1 標本内に 50 個以上の多数の MZB 1 陽性細胞を認めた。しかしそのほとんどの形態は、核周辺明庭や車輪核などの典型的な形質細胞の特徴を持たず、非典型的な形態を示す可能性をした。(図 3)

アトピー性皮膚炎の 28 例の血清 IgE 濃度と、MZB 1 陽性細胞数の相関関係を検討したところこれらに間に正の相関関係があることが示唆された(図 4 . 統計学的有意差無し)。

今後これらの細胞について臨床症状との相関関係を検索することで、生理学的意義を検討につなげる。

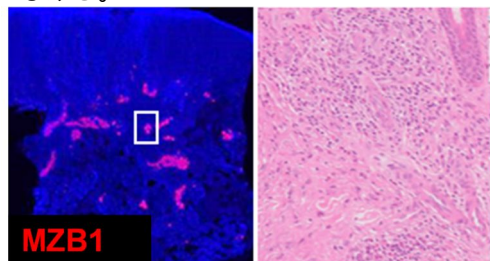


図 3:AD において MZB1 陽性細胞が稠密に浸潤していた領域(左図、白四角)に対応する HE 染色像(右図)では典型的な形態の形質細胞はわずかであった。

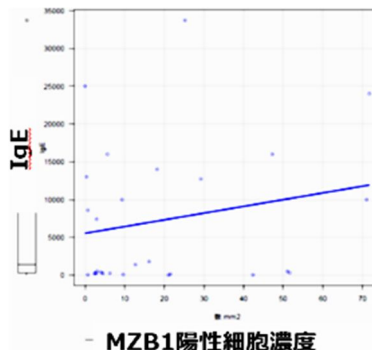


図 4 :AD 28 症例における MZB1 陽性細胞の浸潤濃度と血清 IgE の相関関係の間に正の相関関係が示唆された

< 引用文献 >

Gudjonsson JE. et al. Contribution of plasma cells and B cells to hidradenitis suppurativa pathogenesis. JCI Insight. 2020 Oct 2;5(19):e139930.

Alkon N. et al. Single-cell analysis reveals innate lymphoid cell lineage infidelity in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2022 Feb;149(2):624-639.

Lee EY et al. Functional interrogation of lymphocyte subsets in alopecia areata using single-cell RNA sequencing Proc Natl Acad Sci U S A. 2023 Jul 18;120(29):e2305764120.

Ober-Reynolds B. et al. Integrated single-cell chromatin and transcriptomic analyses of human scalp identify gene-regulatory programs and critical cell types for hair and skin diseases. Nat Genet. 2023 Aug;55(8):1288-1300.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5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 Kogame Toshiaki, Egawa Gyohei, Nomura Takashi, Kabashima Kenji	4. 巻 13
2. 論文標題 Waves of layered immunity over innate lymphoid cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.957711	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 Takimoto-Ito Riko, Kambe Naotomo, Kogame Toshiaki et al.	4. 巻 72
2. 論文標題 Summary of the current status of clinically diagnosed cases of Schnitzler syndrome in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 297 ~ 305
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2022.11.004	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 Yonekura Satoru, Komori Takaya, Ishida Yoshihiro, Kogame Toshiaki, Kabashima Kenji	4. 巻 158
2. 論文標題 Treatment With Topical Sirolimus for Recurrent Lymphatic Malformation of the External Urethral Meatus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JAMA Dermatology	6. 最初と最後の頁 1331 ~ 1331
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1001/jamadermatol.2022.2793	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 Kogame Toshiaki, Yonekura Satoru, Lovato Paola, Hirata Masahiro, Takimoto-ito Riko, Takegami Tomoya, Komatsu-Fujii Takayoshi, Kambe Naotomo, Nomura Takashi, R?pke Mads A, Kabashima Kenji	4. 巻 188
2. 論文標題 Interleukin-13 inhibition by tralokinumab reduces inducible T-cell costimulator-positive innate lymphoid cells in skin lesions of atopic dermatitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 146 ~ 148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bjd/ljac008	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 Kogame T., Ogawa Y., Kabashima K., Yamamoto Y.	4. 巻 36
2. 論文標題 At risk circumstances for COVID 19 increase the risk of pruritus: cross sectional and longitudinal analyses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 e174 ~ e175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.17809	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 Toshiaki Kogame, Kenji Kabashima, Gyohei Egawa	4. 巻 12
2. 論文標題 Putative Immunological Functions of Inducible Skin-Associated Lymphoid Tissue in the Context of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 733484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.733484.	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 T Kogame, T Takegami, F Budair, T Nomura, K Kabashima
2. 発表標題 The presence of ILC2 may suggest the pathophysiological contribution to eosinophilic pustulosis folliculitis
3. 学会等名 European Society for Dermatological Research (国際学会)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Tomoya Takegami, Toshiaki Kogame, Takashi Nomura, Naotomo Kambe, Takaya Komatsu, Kenji Kabashima
2. 発表標題 AID expression of B cells in the tertiary lymphoid structures implies an immunoglobulin class switching in tumor immunity
3. 学会等名 日本研究皮膚科学会 第46回年次学術大会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kosei Nanya, Toshiaki Kogame, Masahiro Hirata, Riko Takimoto-Ito, Masakazu Fujimoto, Takashi Nomura, Naotomo Kambe, Kenji Kabashima
2. 発表標題 iSALT structures in B-cell type pseudolymphoma and their potential for local plasmacytoid differentiation in the skin
3. 学会等名 日本研究皮膚科学会 第46回年次学術大会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keigo Takase, Toshiaki Kogame, Riko Takimoto-ito, Takayoshi Komatsu-Fujii, Rintaro Shibuya, Takashi Nomura, Naotomo Kambe, Kenji Kabashima
2. 発表標題 possible niche for B-cell development in the skin in primary cutaneous plasmacytosis suggesting the presence of a functional unit as iSALT
3. 学会等名 日本研究皮膚科学会 第46回年次学術大会・総会
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