

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24043

研究課題名(和文) 乾癬の病態形成における皮膚T細胞のクロマチン動態およびクロマチン修飾因子の役割

研究課題名(英文) Chromatin dynamics of skin T cells in the pathogenesis of psoriasis

研究代表者

柴田 彩 (SHIBATA, Sayaka)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50613105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚は最外側に位置する臓器であり、常に外界と接するという特異な環境にある。それ故、外傷、病原体の侵入、紫外線といった外的刺激に反応し、表皮角化細胞と免疫細胞は互いにシグナルを伝達することにより、炎症反応を誘導し、表皮の修復を開始する。このように細胞同士が外的刺激に適切に協調的に反応することにより、皮膚の恒常性は保たれており、これらの協調的バランスが崩れると、炎症の増強や遷延が生じ、慢性炎症性皮膚疾患の発症の引き金となる。本研究では慢性の皮膚炎症性疾患に関わる細胞のクロマチン動態に着目した。乾癬においては本来クロマチン制御因子が持つ制御機能が破綻している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続するストレス応答はストレス耐性の獲得につながる一方、細胞内のエピジェネティクス環境がストレス刺激前の状態に十分に戻らない場合、刺激にたいする過敏性を誘導する可能性がある。慢性皮膚炎症性疾患におけるエピジェネティクス環境は病態の維持期や再発期において役割を担っている可能性があり、エピジェネティクスという視点からの病態解明は新規の乾癬治療戦略という点においても重要である。

研究成果の概要(英文)：The skin is located at the most outer part of the body and is constantly exposed to hostile insults, including physical injury, invading pathogens and UV. In response to stress signaling, keratinocytes and immune cells in epidermis or dermis immediately start to communicate with each other, thereby placing local immune cells on high alert and restoring skin damage. Interplay between keratinocytes and immune cells is well-balanced, and sustained overactivation of these cells results in pathogenic states often characterized by excessive inflammation. In this study, we have focused on epigenetic environment of cells involved in chronic skin diseases. In psoriasis, one of the representative chronic skin diseases, the repressive function of chromatin remodelers is suggested to be impaired.

研究分野：皮膚炎症性疾患

キーワード：皮膚炎症性疾患 皮膚免疫 表皮細胞

1. 研究開始当初の背景

皮膚は最外側に位置する臓器であり、常に外界と接するという特異な環境にある。それ故、外傷、病原体の侵入、紫外線といった外的刺激に反応し、表皮角化細胞ならびに表皮および真皮内の免疫細胞は互いにシグナルを伝達し、外的刺激に対処するための炎症反応を誘導すると同時に表皮の修復を開始する。このように細胞同士が外的刺激に適切に協調的に反応することにより、皮膚の恒常性は保たれている。これらの協調的バランスが崩れると、炎症の増強や遷延、皮膚角化細胞の過増殖・分化異常が生じ、慢性炎症性皮膚疾患の発症の引き金となる。細胞間のシグナル伝達はサイトカインやケモカイン、接着分子などを介して行われるが、これらの因子の遺伝子発現は核内のクロマチン環境によって制御されている。表皮角化細胞と免疫細胞の協調的バランスが崩れた結果として生じる慢性化した皮膚炎症性疾患の病態基盤にはエピジェネティクス修飾の破綻や過剰に活性化したクロマチン環境が背景にあると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では慢性の皮膚炎症性疾患の病態形成に関わる細胞のクロマチン動態に着目し、遺伝子発現制御におけるクロマチン制御因子が担う役割の観点から病態の解明に取り組むことを目標とした。クロマチン制御因子には共有結合を介してヒストンを修飾する因子ならびに ATP 依存性にクロマチンの最小単位であるヌクレオソームの配置を調整する因子がある。後者におけるクロマチン制御因子は ATP の加水分解によるエネルギーを使い、ヌクレオソームを移動、除去、再構成することでクロマチンのアクセシビリティを調整し、転写因子の活性に影響を与えることにより、局所の遺伝子発現を調整する。ATP 依存性クロマチン制御因子としては SWI/SNF (Switch/Sucrose-non-fermenting)、Mi-2/NuRD (Mi-2/Nucleosome remodeling Deacetylase)、ISWI (Imitation Switch) および INO80 (Inositol Requiring 80) が知られており、いずれも複数の因子から構成される複合体を形成している。Mi-2/NuRD 複合体はクロマチンリモデリング作用を主に担う Mi-2 β 因子のほか、histone deacetylase (HDAC) や MTA、MBD、転写因子を構成成分として含む。転写因子については細胞の種類によって複合体に含まれる因子が異なり、血球の分化過程においては Ikaros 転写因子が Mi-2 β 因子と協調的に遺伝子発現を制御している。表皮においては Mi-2 β 因子は AP-1 転写因子とともに遺伝子発現を制御している。定常状態において、Mi-2 β 因子は AP-1 転写因子の 1 つである JunB 因子と DNA 結合領域を共有し、ストレス応答遺伝子の発現を抑制することで恒常性を維持している。一方で、細胞外からストレス刺激を受けると表皮内において、DNA の制御領域から Mi-2 β 因子の結合が外れる。代わりに活性型の AP-1 転写因子である c-Jun 因子が制御領域に結合することにより、ストレス応答遺伝子の発現を誘導する。このように Mi-2 β 因子は AP-1 転写因子と協調的に機能することで、皮膚ストレス刺激に対応している。皮膚は慢性的に外的刺激を受ける臓器であり、乾癬において外的刺激を契機に誘発される皮疹はケプネル現象として知られている。また、アトピー性皮膚炎においては搔破により、皮膚のバリア機能が破綻し、炎症反応が増悪する。このように外的刺激を契機に増悪ならびに慢性化する皮膚疾患の病態基盤にはエピジェネティクス修飾によって制御されるクロマチンリモデリングが重要であると考えられる。本研究では慢性皮膚炎症性疾患の 1 つである乾癬に特に着目し、乾癬における Mi-2/NuRD 複合体の役割、ならびに乾癬の病態を形成す

る細胞である表皮角化細胞やT細胞における Mi-2 β 因子の機能解析を行い、エピジェネティクス制御という観点から皮膚疾患の病態解明に取り組むことを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. 乾癬病変部におけるクロマチン制御因子の発現の評価

乾癬患者の皮膚組織を用いて、クロマチン制御因子 Mi-2 β 因子の染色を行い、健常人皮膚組織における発現と比較した。凍結切片ならびにパラフィン包埋切片を用い、標識として HRP、発色基質として 3,3'-diaminobenzidine (DAB) を使用した。また、一部の細胞においては酵素標識法での評価が困難であったため、蛍光標識を用いて染色を行なった。

3-2. 表皮角化細胞およびT細胞における Mi-2 β 因子の機能評価

皮膚の恒常性維持に表皮角化細胞ならびに免疫細胞は必須であるが、乾癬の病態形成においてもこれらの細胞は治療に直結するサイトカインの主要な産生細胞であり、治療の観点からも重要な役割を担っている。Mi-2 β 因子は各種細胞に恒常的に発現しているが、Mi-2 β 因子を欠失した表皮角化細胞ならびに T 細胞において、乾癬の病態形成に関わる遺伝子の発現に変化が見られるかについて検討した。

4. 研究成果

皮膚における Mi-2 β 因子の発現につき、免疫染色による評価を行った。正常表皮は基底細胞、有棘層、顆粒層とも一様に核内において、Mi-2 β 因子が染色されたが、乾癬の病変部表皮においては表皮細胞の核の Mi-2 β 因子の染色が減弱した。真皮内の浸潤細胞に関しては、酵素標識法では発現量の差の評価が困難であったため、蛍光標識を用いた検討を行ったところ、浸潤細胞における Mi-2 β 因子の発現が減弱していた。検体数を増やし、さらなる検討を行う予定である。

各細胞における Mi-2 β 因子の発現機能解析については、表皮角化細胞を用いて Mi-2 β 因子を欠失させ、検討を行った。Type17 炎症に寄与するケモカイン(Ccl20) サイトカイン(IL1f9)のほか、抗菌ペプチド(S100a9, Lcn2)の発現上昇がみられ、Mi-2 β 因子の発現低下に伴い、Type17 炎症を誘導する因子が表皮から産生され、乾癬の病態形成に寄与している可能性が示唆された。T細胞における Mi-2 β 因子の発現機能解析については現在、検討を進めている。

<引用文献>

1. Segre, J.A. 2006. Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *J Clin Invest* 116:1150-1158.
2. Tong, J.K., C.A. Hassig, G.R. Schnitzler, R.E. Kingston, and S.L. Schreiber. 1998. Chromatin deacetylation by an ATP-dependent nucleosome remodelling complex. *Nature* 395:917-921.
3. Zhang, Y., G. LeRoy, H.P. Seelig, W.S. Lane, and D. Reinberg. 1998. The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex

- containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell* 95:279-289.
4. Kim, J., S. Sif, B. Jones, A. Jackson, J. Koipally, E. Heller, S. Winandy, A. Viel, A. Sawyer, T. Ikeda, R. Kingston, and K. Georgopoulos. 1999. Ikaros DNA-binding proteins direct formation of chromatin remodeling complexes in lymphocytes. *Immunity* 10:345-355.
 5. Williams, C.J., T. Naito, P.G. Arco, J.R. Seavitt, S.M. Cashman, B. De Souza, X. Qi, P. Keables, U.H. Von Andrian, and K. Georgopoulos. 2004. The chromatin remodeler Mi-2beta is required for CD4 expression and T cell development. *Immunity* 20:719-733.
 6. Kashiwagi, M., J. Hosoi, J.F. Lai, J. Brissette, S.F. Ziegler, B.A. Morgan, and K. Georgopoulos. 2017. Direct control of regulatory T cells by keratinocytes. *Nat Immunol* 18:334-343.
 7. Kashiwagi, M., B.A. Morgan, and K. Georgopoulos. 2007. The chromatin remodeler Mi-2beta is required for establishment of the basal epidermis and normal differentiation of its progeny. *Development* 134:1571-1582.
 8. Shibata S., M. Kashiwagi, B.A. Morgan, and K. Georgopoulos. 2020. Functional interactions between Mi-2beta and AP1 complexes control response and recovery from skin barrier disruption. *J Exp Med* 217:jem.20182402.

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