

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08907

研究課題名(和文) 経皮感作による食道・皮膚間の免疫応答に着目した好酸球性食道炎の発症機序の解明

研究課題名(英文) Mechanism of eosinophilic esophagitis focusing on the immune response of the esophagus-skin interface via percutaneous sensitisation.

研究代表者

大嶋 直樹 (Oshima, Naoki)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・講師

研究者番号：10403461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、アレルギー疾患の新たな感作経路として経皮感作が注目されている。本研究では、皮膚における抗原感作は好酸球性食道炎(EoE)発症の契機となるのか、また皮膚のバリア機構の破綻は好酸球性食道炎の病態形成の一因になり得るのかを明らかにすることを目的とし、マウスモデルを用いて好酸球性食道炎発症に至る免疫学的背景について研究を行った。その結果、外来抗原の経皮感作は食道粘膜に好酸球性炎症を誘導し、それらの病態形成にはIL-33を介したILC2が関与する可能性が示唆された。また皮膚、食道の防御機構の破綻は好酸球性食道炎を増悪させることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は“消化管粘膜”の好酸球性炎症でありながら、その病態解明の舞台を“皮膚”に移し、全く新しいアプローチからEoE発症の謎を解き明かそうとする学術的独自性を持った研究と考えられる。“アレルギーアーチ”の過程において、外来抗原の経皮暴露がEoE発症の一因になることが明らかになった。今回の成果を基に皮膚をターゲットとしたEoEの発症予防、経皮免疫療法といった新しい治療法の開発も期待でき、創造性も持ち合わせている。

研究成果の概要(英文)：In recent years, epicutaneous sensitisation has attracted attention as a new sensitisation route for allergic diseases. The aim of this study was to clarify whether antigen sensitisation in the skin triggers the development of eosinophilic esophagitis (EoE) and whether the disruption of the skin barrier mechanism can contribute to the pathogenesis of EoE. The results suggest that epicutaneous sensitisation with antigens induces eosinophilic inflammation in the esophageal mucosa and that ILC2 mediated by IL-33 may be involved in the pathogenesis of EoE. It was also found that disruption of the skin barrier exacerbates development of EoE.

研究分野：消化器内科

キーワード：好酸球性食道炎 アレルギー

## 1. 研究開始当初の背景

消化器系アレルギー疾患の一つである好酸球性食道炎 (eosinophilic esophagitis: EoE) は食道に好酸球、炎症細胞が浸潤し、慢性炎症が起こる病態である。我々は日本で最初の EoE 症例を報告して以来、一貫して EoE の臨床・基礎研究を遂行している。その中で EoE では他のアレルギー疾患と同様に Th2 系の免疫反応が深く関与し、病態形成に重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。しかしながら、一般的にアレルギー疾患の発症には食物、ダニなどの外来抗原による感作が必要とされるが、EoE における抗原感作の成立機序は未だ不明であり、EoE の病態を解明する重要な鍵の一つと考えられる。

最近、“アレルギーマーチ”という概念が提唱されている。これは皮膚、上下気道、腸管などの異なる部位におけるアレルギー疾患が、異時性、異所性に発症し年齢と共に変化・進行していく現象を指している。具体的には乳児期にアトピー性皮膚炎 (atrophic dermatitis: AD) を発症し、学童期以降では気管支喘息やアレルギー性鼻炎、また成人になると EoE を発症するのが典型的なパターンである。実際に我々の全国疫学調査でも、EoE 患者の約半数にアトピー性皮膚炎、気管支喘息などの他のアレルギー疾患の合併を認め、それらは EoE に先行して発症していた事が明らかとなっている。これらの事は、EoE の発症には、消化管粘膜のみならず皮膚や上下気道粘膜での外来抗原の感作も重大な役割を占める可能性を示唆している。

実際に、粘膜上皮のバリア機構に対して重要な役割を果たしている epidermal differentiation complex protein (EDC protein) をコードする遺伝子群の変異は EoE の発症に大きく関連しているが、興味深い事に、AD においても同様の変異の関与を認める事がゲノムワイド関連解析 (GWAS) で明らかになっている。これは、AD の抗原感作の場である皮膚のバリア機能の異常が AD のみならず EoE の発症リスクにもなる事を示している。加えて我々は、ヒト食道粘膜と皮膚では EDC protein の一つである Filaggrin の発現パターンが異なり、EoE 患者では食道局所における Fila 蛋白の発現が健常人と比較して低下していることを報告している (Esophagus, 2017)。このことは、食道粘膜においてもバリア機能の異常が好酸球性炎症に大きく関与していることを示唆している。

以上の結果を踏まえ、外来抗原の感作がいかに炎症の首座である食道粘膜に好酸球を誘導し EoE を発症させるのか、また皮膚、食道の防御機構の破綻は好酸球性食道炎の病態にどのような影響を与えるのかという問い掛けに至った。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、皮膚上皮または食道における、EDC protein の一つである Filaggrin の免疫動向に着目し、EoE の発症機序を明確にすることである。

## 3. 研究の方法

### 外来抗原の経皮感作が EoE を惹起するかどうかを明らかにする

既に我々は野生型マウスに対して、抗原感作の目的でアレルギー (卵白アルブミン: OVA) を腹腔内へ投与し、その後の鼻腔内投与によって、食道粘膜内への多数の好酸球浸潤を誘導する EoE モデルを完成させている。本研究では OVA を皮膚に塗布することによって経皮感作を成立させ、実際に食道内に好酸球性炎症が誘導されるかどうかを検討する。

具体的には野生型 BALB/c マウスの背側皮膚を剃毛し、OVA 抗原または PBS (コントロール) を浸した無菌ガーゼを 24 時間、2 日毎に計 3 回貼付し、経皮感作を成立させる。その後は抗原を鼻腔内へ投与し、食道内に好酸球が誘導されるかどうかをコントロール群と比較検討する。具体的には食道の組織学的評価 (好酸球、炎症細胞浸潤)、フローサイトメトリー (FCM) による好酸球 (siglec-F/CD11b 陽性細胞) の分布、real-Time PCR 法による Th2 系サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-13, IL-15, IL-33)、好酸球ケモカインの mRNA の発現量を確認する。また、食道粘膜の PCR array を行いアレルギー関連遺伝子の増幅の有無を解析する。

過去に我々は EoE モデルマウスにおいて、FCM 解析により食道内に好酸球、炎症細胞のみならず Lineage(-)CD25(+)CD127(+)ST2(+) の細胞集団、いわゆる自然リンパ球 (ILC2) の増加を認め、これらは食道上皮細胞から産生される IL-33 依存性である事を見出している (平成 26-28 年度科学研究費)。これらの知見から、経皮感作によって誘導された食道内の好酸球性炎症も、腹腔内感作と同様に IL-33 を介した ILC2 の関与を認めるかどうかを前述の手法で検討する。

加えて我々の有する IL-33 遺伝子欠損 (KO) マウスにおいても経皮感作による EoE が成立するかどうかを確認する。

### 皮膚の上皮バリアの破綻が EoE の病態形成に関与するかを明らかにする

野生型マウスの皮膚に対してドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 塗布によるバリア機能の化学的破壊を行い、これらが経皮的抗原感作を増強させるかどうかを検討する。

## 4. 研究成果

まず初めに野生型 BALB/c マウスに対して OVA を皮膚に塗布することによって経皮感作を成立さ

せ、その後は抗原を鼻腔内へ投与する経皮感作 EoE モデルを作成した。その結果、腹腔内感作モデルと同様に、食道粘膜内への好酸球浸潤、炎症細胞浸潤を確認した。さらに、FCM による siglec-F 陽性細胞の増加、Th2 系サイトカイン(IL-4、IL-5、IL-13、TSLP)、好酸球ケモカインの mRNA の発現量の増加を認めた。加えて、食道粘膜の PCR array を行い、野生型マウスと比較して経皮感作 EoE モデルではアレルギー関連遺伝子の増幅を確認した。以上の結果からアレルゲン(OVA)の皮膚塗布により経皮感作が成立し、その後の経鼻的アレルゲン刺激により食道内に好酸球性炎症が誘導されることが明らかとなった。

また、経皮感作モデルにおいて皮膚、食道粘膜の IL-33、ST2 の発現亢進を認め、さらに ILC2 の増加を確認した。続いて IL-33 KO マウスに対しても同様の経皮感作モデルを作成し、好酸球性炎症誘導の有無を確認した。その結果、野生型マウスと比較して食道上皮内への好酸球浸潤の減少を認めた。さらに KO マウスでは Th2 系サイトカイン、好酸球ケモカインの発現低下を認めた。加えて ILC2 も減少していた。これらの結果から腹腔内感作と同様に経皮感作モデルにおいても IL-33 を介した ILC2 の関与を認めることが明らかになった。

続いて、野生型マウスの皮膚に対してドデシル硫酸ナトリウム(SDS)塗布による皮膚バリア機能の化学的破壊を行い、これらが経皮的抗原感作を増強させるかどうかを検討した。結果としてコントロール群と比較して SDS 塗布群において食道における好酸球性炎症の増強を認めた。

以上の結果から、アレルゲンの経皮感作は好酸球性食道炎の発症機序において重要な役割を担っていることが明らかになった。また、それらの病態形成には IL-33 を介した ILC2 の関与を認めた。さらに、皮膚バリアの破壊は消化管における好酸球性炎症の誘導を増強することが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10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 Shibagaki Kotaro, Itawaki Ayako, Miyaoka Yoichi, Kishimoto Kenichi, Takahashi Yusuke, Kotani Satoshi, Mishiro Tsuyoshi, Oshima Naoki, Kawashima Kousaku, Ishimura Norihisa, Onuma Hideyuki, Nagasaki Makoto, Nagase Mamiko, Araki Asuka, Kadota Kyuichi, Kushima Ryoji, Ishihara Shunji	4. 巻 480
2. 論文標題 Intestinal-type gastric dysplasia in Helicobacter pylori-na?ve patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 783 ~ 792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-021-03237-9	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 Yazaki Tomotaka, Moriyama Ichiro, Tobita Hiroshi, Sonoyama Hiroki, Okimoto Eiko, Oka Akihiko, Mishima Yoshiyuki, Oshima Naoki, Shibagaki Kotaro, Kawashima Kousaku, Ishimura Norihisa, Nagami Taichi, Maruyama Riruke, Shiina Hiroaki, Ishihara Shunji	4. 巻 61
2. 論文標題 The Simultaneous Onset of Pancreatitis and Colitis as Immune-related Adverse Events in a Patient Receiving Nivolumab Treatment for Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1485 ~ 1490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.7911-21	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 Kataoka Masatoshi, Saitoh Tsukasa, Kawashima Kousaku, Yazaki Tomotaka, Sonoyama Hiroki, Okimoto Eiko, Oka Akihiko, Mishima Yoshiyuki, Mishiro Tsuyoshi, Oshima Naoki, Shibagaki Kotaro, Tobita Hiroshi, Moriyama Ichiro, Ishimura Norihisa, Nagase Mamiko, Hirahara Noriyuki, Tajima Yoshitsugu, Ishihara Shunji	4. 巻 60
2. 論文標題 Primary Extragastrintestinal Stromal Tumor of Greater Omentum with Intraperitoneal Bleeding	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 3413 ~ 3419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.6519-20	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 Tobita Hiroshi, Yazaki Tomotaka, Kataoka Masatoshi, Kotani Satoshi, Oka Akihiko, Mishiro Tsuyoshi, Oshima Naoki, Kawashima Kousaku, Ishimura Norihisa, Naora Kohji, Sato Shuichi, Ishihara Shunji	4. 巻 68
2. 論文標題 Comparison of dapagliflozin and teneligliptin in nonalcoholic fatty liver disease patients without type 2 diabetes mellitus: a prospective randomized study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 173 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.20-129	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 Oshima Naoki, Mishima Yoshiyuki, Shibagaki Kotaro, Kawashima Kousaku, Ishimura Norihisa, Ikejiri Fumiyoshi, Onishi Chie, Okada Takahiro, Inoue Masaya, Moriyama Ichiro, Suzumiya Junji, Kinoshita Yoshikazu, Ishihara Shunji	4. 巻 21
2. 論文標題 Differential gene expression analysis of dasatinib-induced colitis in a patient with chronic myeloid leukemia followed for 3?years: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12876-020-01584-6	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 Kishimoto Kenichi, Kawashima Kousaku, Fukunaga Mai, Kotani Satoshi, Sonoyama Hiroki, Oka Akihiko, Mishima Yoshiyuki, Oshima Naoki, Ishimura Norihisa, Ishikawa Noriyoshi, Maruyama Riruke, Ishihara Shunji	4. 巻 60
2. 論文標題 Intermittent Purpura Development Associated with Leukocytoclastic Vasculitis Induced by Infliximab for Crohn's Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 385 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.5340-20	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 Shibagaki Kotaro, Yuki Takafumi, Taniguchi Hideaki, Aimi Masahito, Miyaoka Yoichi, Yuki Mika, Ishimura Norihisa, Oshima Naoki, Mishiro Tsuyoshi, Tamagawa Yuji, Mikami Hironobu, Izumi Daisuke, Yamashita Noritsugu, Sato Shuichi, Ishihara Shunji, Kinoshita Yoshikazu	4. 巻 32
2. 論文標題 Prospective multicenter study of the esophageal triamcinolone acetonide filling method in patients with subcircumferential esophageal endoscopic submucosal dissection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 355 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13496	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 Kotani Satoshi, Fukuba Nobuhiko, Kawashima Kousaku, Mishima Yoshiyuki, Sonoyama Hiroki, Okimoto Eiko, Tada Yasumasa, Oka Akihiko, Tamagawa Yuji, Oshima Naoki, Mishiro Tsuyoshi, Tobita Hiroshi, Shibagaki Kotaro, Moriyama Ichiro, Ishimura Norihisa, Kushiya Yoshinori, Fujishiro Hirofumi, Ishihara Shunji	4. 巻 55
2. 論文標題 Prevalence of functional dyspepsia-like symptoms in ulcerative colitis patients in clinical remission and overlap with irritable bowel syndrome-like symptoms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scandinavian Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 560 ~ 564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00365521.2020.1761998	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 Kawashima Kousaku, Fukuba Nobuhiko, Uemura Yusuke, Ota Kuniko, Kazumori Hideaki, Sonoyama Hiroki, Oka Akihiko, Tada Yasumasa, Mishima Yoshiyuki, Oshima Naoki, Yuki Takafumi, Katsube Tomoko, Kinoshita Yoshikazu, Ishihara Shunji	4. 巻 99
2. 論文標題 Comorbid irritable bowel syndrome symptoms and headache have greater association with anxiety than depression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e23059 ~ e23059
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000023059	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 Oshima Naoki, Mishima Yoshiyuki, Shibagaki Kotaro, Kawashima Kousaku, Ishimura Norihisa, Ikejiri Fumiyoshi, Onishi Chie, Okada Takahiro, Inoue Masaya, Moriyama Ichiro, Suzumiya Junji, Kinoshita Yoshikazu, Ishihara Shunji	4. 巻 21
2. 論文標題 Differential gene expression analysis of dasatinib-induced colitis in a patient with chronic myeloid leukemia followed for 3?years: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Gastroenterology	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) 10.1186/s12876-020-01584-6	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 石原 俊治, 三島 義之, 岡 明彦, 大嶋 直樹, 川島 耕作	4. 巻 8
2. 論文標題 【炎症性腸疾患の新規治療とその適応】炎症性腸疾患における新規治療の現状	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化器・肝臓内科	6. 最初と最後の頁 219-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 大嶋 直樹, 石原 俊治	4. 巻 4
2. 論文標題 【何をしている好酸球?好酸球性消化管疾患のメカニズム】好酸球性胃腸炎の病態・診断・治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 消化器病サイエンス	6. 最初と最後の頁 99-102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 石村 典久, 沖本 英子, 三代 剛, 大嶋 直樹, 川島 耕作, 石原 俊治
2. 発表標題 好酸球性食道炎の治療後経過に関する検討
3. 学会等名 第17回日本消化管学会総会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大嶋直樹、石村典久、石原俊治
2. 発表標題 microRNAの網羅的解析を用いた好酸球性食道炎のバイオマーカーの探索
3. 学会等名 第97回日本消化器内視鏡学会総会
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
研究 分 担 者	石原 俊治	島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授	
	(Ishihara Shunji)		
	(80263531)	(15201)	

#### 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
---------	---------