

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08689

研究課題名（和文）皮膚アレルギー疾患におけるシュワン細胞の病態関与

研究課題名（英文）Pathological involvement of Schwann cells in cutaneous allergic diseases.

研究代表者

大塚 篤司（Otsuka, Atsushi）

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：60582054

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）：皮膚アレルギー病態における末梢神経の役割が注目されている。シュワン細胞特異的光刺激マウスを作成し、接触皮膚炎モデルで解析したが、炎症の程度に差はなかった。シングルセルRNAシーケンスでシュワン細胞のサブセットを発見し、末梢神経とシュワン細胞が黄色ブドウ球菌による皮膚炎モデルで重要な役割を果たすことを見出した。神経軸索が炎症に寄与している可能性が示唆されるが、シュワン細胞そのものの直接的影響は不明である。今後、シュワン細胞が影響を及ぼす皮膚疾患の可能性を検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚アレルギー疾患における末梢神経の役割を研究しました。神経軸索とシュワン細胞から成る末梢神経の解析に焦点を当て、シュワン細胞特異的光刺激マウスを作成し基礎的解析を行いました。接触皮膚炎の程度に差はありませんでしたが、シングルセルRNAシーケンスを用いてシュワン細胞の解析を行い、サブセットが存在することが分かりました。黄色ブドウ球菌による皮膚炎モデルで、好塩基球が皮膚に浸潤することを確認し、神経軸索とシュワン細胞が炎症に関与する可能性が示唆されました。今後は、シュワン細胞が影響を与える皮膚疾患の可能性について検討し、皮膚アレルギー疾患の理解を深め、治療法の開発に寄与することが期待されます。

研究成果の概要（英文）：The role of peripheral nerves in skin allergy diseases is gaining attention, with a focus on distinguishing nerve fibers and Schwann cells. Schwann cell-specific optogenetic mice were created for basic analysis, but in a contact dermatitis model, inflammation didn't differ from control mice. Single-cell RNA sequencing revealed subsets of Schwann cells in the epidermis. In a Staphylococcus aureus-induced dermatitis model, many eosinophils infiltrated the skin, and RTX treatment revealed the importance of peripheral nerves and Schwann cells. Both produced chemokines, and TLR2 KO mice showed reduced inflammation with eosinophils and basophils being the main inflammatory cells. The direct impact of Schwann cells on skin allergy reactions remains unclear, but nerve fibers' contribution to inflammation is suggested. Future research will explore Schwann cells' potential involvement in skin diseases.

研究分野：皮膚アレルギー疾患

キーワード：接触皮膚炎 シュワン細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

皮膚末梢神経が免疫細胞の機能を調整していることが近年報告された。皮膚末梢神経を除去したマウスではイミキモド誘発型乾癬様皮膚炎モデルの炎症が減弱する(Nature, 510 (2014), 157-161)。また、皮膚カンジダ感染では皮膚末梢神経が神経ペプチド CGRP を放出することで真皮樹状細胞の機能を亢進させ、感染防御に働く(Immunity, 43 (2015), 515-526)。しかし、これらの報告は神経軸索とシュワン細胞を区別せず、除神経モデルとして両者の機能を阻害することで解析してきた。申請者はすでに、シュワン細胞そのものがケモカインを産生し皮膚アレルギー疾患に関与する可能性を見出している(未発表データ)。

皮膚末梢神経は有髄神経と無髄神経に分類される。シュワン細胞は有髄神経の髄鞘(ミエリン)を形成するだけではない。無髄神経はミエリンを形成しないが、非ミエリン形成シュワン細胞(Remark Schwann)が随伴細胞として存在する。

2. 研究の目的

中枢神経系では、髄鞘を形成する細胞はオリゴデンドロサイトである。オリゴデンドロサイトは脊髄損傷などの場面で免疫細胞を病変部に誘導する役割を担うことが既に知られている。しかしながら、皮膚免疫における末梢神経系では髄鞘を形成するシュワン細胞の働きは解析されていない。本研究課題では、皮膚アレルギー疾患の病態形成におけるシュワン細胞の機能を明らかにし、難治性皮膚疾患の新規治療ターゲットの同定を目指す。かゆみを伝達する C 繊維は無髄神経に含まれる。我々はこの C 繊維が放出する神経ペプチドが樹状細胞の遊走能を亢進し接触皮膚炎の病態に関与していることを見出した。その研究過程で、神経細胞とは別にシュワン細胞がサイトカインやケモカインを放出するデータを得た。本研究はこれまで一括りで解析されてきた末梢神経を軸索とミエリンにわけ機能解析を行う。

3. 研究の方法

皮膚疾患における非ミエリン形成シュワン細胞の分布と免疫細胞の位置情報の解析を行う。次に、シュワン細胞特異的光刺激マウスとシュワン細胞特異的ノックアウトマウスの作成と機能解析を行う。光活性化非選択的陽イオンチャネルであるチャンネルロドプシン(ChR2)は、青色光照射により活性化される(波長 470nm で最も強く活性化される)。また、Rosa26ChR2-eYFP マウス(Ai-32)と種々の Cre マウスとを交差させたトランスジェニックマウスに青色光を照射すると、標的細胞特異的な活性化を光刺激で起こすことができる。このシステムを用いてシュワン細胞特異的光刺激マウスを作成する。末梢神経系のグリア細胞であるシュワン細胞は髄鞘を形成する(myelinating Schwann cell)。一方、無髄線維をとりかこむようなシュワン細胞(non-myelinating Schwann cell)も数多く存在する(myelinating の約 4 倍)。さらに、Sox10 や PLP (proteolipid protein)、MPZ (myelin protein zero) は代表的なグリア細胞の発現蛋白で、シュワン細胞でも発現がみられる。

これまでの報告(Specialized cutaneous Schwann cells initiate pain sensation. Science. 2019)と以上のことから、Plp-CreERT2、Sox10-CreERT2 と Ai-32 とを各々交差させた Plp-ChR2、Sox10-ChR2 マウスに対し、青色光を体表に照射し皮膚シュワン細胞(nociceptive Schwann cell)を活性化させることが可能である。

中枢神経系の研究ではミエリン特異的 P0-Cre マウスが使用されている。またタモキシフェン誘導型の P0-Cre(ERT2)は Jackson で購入済みである。CCL2-fllox マウスもしくは CCL5-fllox マウスをかけ合わせることで皮膚局所におけるシュワン細胞が産生するケモカインの病態形成における関与が解析可能である。空間的解析で予測した免疫細胞との相互作用について、シュワン細胞特異的ノックアウトマウスを用いて検討する。

非ミエリン形成シュワン細胞がケモカインを産生する細胞内シグナルを同定

DRG より分離したシュワン細胞の培養は既に樹立済みである。このシュワン細胞に TLR2 刺激の有無で RNA シークエンスを行い、変動するサイトカインおよびケモカインを網羅的に解析する。更にリン酸化抗体アレイを用いてシュワン細胞にてケモカイン産生の軸となるシグナルの同定を行う。1280 種類の化合物ライブラリー(TOCRISCREEN)よりケモカインの産生抑制およびリン酸化を阻害する化合物を同定する。MC903 にて誘導したアトピー性皮膚炎モデルに同定した化合物を含むクリームを外用し、抗炎症効果を検討する。

4. 研究成果

シュワン細胞特異的光刺激マウスを作成し基礎的な解析を行った。光刺激により皮膚毛細血管の拡張が見られ、また痒みが軽度誘発されることを確認した。このマウスを用いて、接触皮膚炎モデルでの解析を行った。しかし、シュワン細胞特異的光刺激マウスに光刺激を与えても、接触

皮膚炎の程度はコントロールマウスと差がなかった。次に、シングルセル RNA シークエンスの技術を用いて、表皮間近に存在するシュワン細胞の解析を行った。その結果、シュワン細胞はいくつかのサブセットが存在することが明らかとなった。

次に、シュワン細胞の影響を除外した末梢神経の皮膚アレルギー疾患における役割の検討を行った。黄色ブドウ球菌による皮膚炎モデルの解析にて、好塩基球が多数皮膚に浸潤してくることを明らかとした。この系において、末梢神経及びシュワン細胞が重要な役割を担うことを RTX 処置にて明らかとした。さらに、DRG よりシュワン細胞と神経軸索を分離し *in vitro* で検証した結果、ともにいくつかのケモカインを産生することを見出した。TLR2 KO マウスを用いた懐石では、黄色ブドウ球菌による皮膚炎の炎症は減弱した。また、これらの炎症の主体は好塩基球であった。

以上のことより、シュワン細胞そのものの皮膚アレルギー反応への直接への影響は未だ不明ではあるものの、神経軸索が炎症に寄与している可能性が示唆される。今後は、シュワン細胞が影響を及ぼす皮膚疾患の可能性について検討を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Nakashima Chisa, Yanagihara Shigeto, Otsuka Atsushi	4. 巻 71
2. 論文標題 Innovation in the treatment of atopic dermatitis: Emerging topical and oral Janus kinase inhibitors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 40 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2021.10.004	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 Yamamoto Yasuo, Otsuka Atsushi, Ishida Yoshihiro, Wong Lai San, Seidel Judith A., Nonomura Yumi, Nakashima Chisa, Nakajima Saeko, Kitoh Akihiko, Nomura Takashi, Dainichi Teruki, Honda Tetsuya, Amano Wataru, Konishi Noriko, Hayashi Mikio, Matsushita Mutsuyoshi, Kabashima Kenji	4. 巻 148
2. 論文標題 Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide promotes cutaneous dendritic cell functions in contact hypersensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 858 ~ 866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2021.02.005	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 Adachi Akimasa, Honda Tetsuya, Dainichi Teruki, Egawa Gyohei, Yamamoto Yosuke, Nomura Takashi, Nakajima Saeko, Otsuka Atsushi, Maekawa Masamitsu, Mano Nariyasu, Koyanagi Naoto, Kawaguchi Yasushi, Ohteki Toshiaki, Nagasawa Takashi, Ikuta Koichi, Kitoh Akihiko, Kabashima Kenji	4. 巻 148
2. 論文標題 Prolonged high-intensity exercise induces fluctuating immune responses to herpes simplex virus infection via glucocorticoids	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1575 ~ 1588.e7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2021.04.028	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 -

〔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
---------	---------