

研究報告書

「皮膚の恒常性維持機構からアレルギークロストークへの展開」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 25 年 10 月～平成 29 年 3 月

研究者: 梶島 健治

1. 研究のねらい

皮膚は外的刺激に常時曝露されているが、動的な恒常性維持機構が作用し、生体は生命バランスを維持している。そこで、「皮膚バリアという構造学的観点、免疫学的観点、そしてかゆみという皮膚生理学的観点という3つの異なる学術領域が三位一体となって皮膚恒常性の動的維持に関与する」という新たな概念(Kabashima K J Dermatol Sci 2013)に基づき、皮膚の恒常性維持機構を解明することが本研究の一つ目のねらいである。その際に、我々が立ち上げてきた生体イメージング技術などを用いて、獲得免疫反応の主役をなすメモリーT細胞の皮膚内における活性化機構の解明も図る。

一方、皮膚恒常性の破綻を契機に、経皮感作を介した皮膚アレルギーが誘導される。また、アレルギーマーチという概念より、各アレルギーが相互関連していることが示唆される。そこで、遺伝子改変マウスなどを用いてアレルギーマーチの進展機序を解明し、新たなアレルギー発症機序に基づく治療法開発にむけた分子基盤を形成することが二つ目のねらいである。

一方、小動物を用いた疾患モデルの解析をそのまま臨床に応用することはできない。小動物で得られた研究成果を、臨床検体を用いて再検証し、ヒトと小動物の皮膚免疫の相異を明確にし、ヒトの病態解明と治療への応用に直接還元させることが三つ目の狙いである。

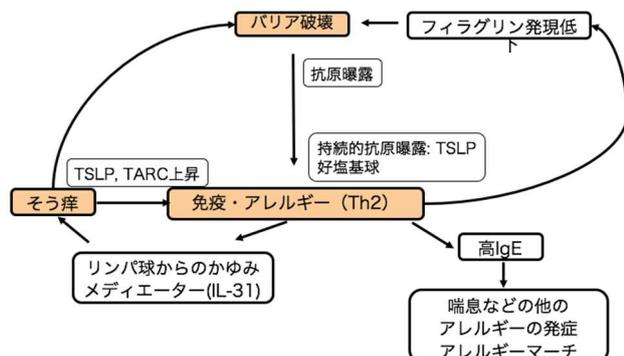
以上より、(1)皮膚の恒常性維持機構の解明、(2)皮膚と他臓器のアレルギークロストークの解明、(3)マウスで得られた知見の臨床への還元、という3つの課題に取り組み、既存の学術領域を越えた横断的かつ統合的アレルギーシステムの理解を目指す。皮膚における生体応答を自在に操り、アレルギー性皮膚疾患の制御のみならず、アレルギー全般の理解や治療開発に繋げ、ライフ・イノベーションの推進を試みたい。

2. 研究成果

(1) 概要

申請者は、「皮膚恒常性の破綻を契機に経皮感作を介して皮膚アレルギーが誘導され、後にアレルギー全般の発症に進展しうる」という作業仮説を立て、その検証を図った。

まず、バリア機能が障害された小動物を作製し、バリア破壊が経皮感作に繋がりをを見出した(Yasuda T et al. J Clin Invest 2016)。また、アトピー性皮膚炎のバリア障害に、JAK-STAT シグナルが関与することを明らかにし、さらに JAK シグナルを阻害する新規化合物が、バリア機能を回復



させ、さらに炎症反応の減弱にもつながることを確認した (Amano W et al. J Allergy Clin Immunol. 2015)。また、かゆみに関与する IL-31 シグナルを阻害することにより、アトピー性皮膚炎をコントロール可能であることを見出した(Ruzicka T et al. N Engl J Med accepted)。以上より、皮膚の恒常性維持において、バリア、免疫、かゆみの 3 つの要素が三位一体となって役割を果たしていることが強く示唆された。

さらに、二光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング技術を導入する事により、皮膚内でメモリー T 細胞が抗原提示をうけて活性化する場所を世界で始めて特定し、inducible Skin-Associated Lymphoid Tissue (iSALT)と命名した(Natsuaki Y et al. Nat Immunol 2014)。

一方、経皮感作による IgE 誘導に、好塩基球と TSLP が重要であることを、遺伝子改変マウスを用いて明らかにした。また、経皮感作を介した食物アレルギーが誘導できること、その際には IL-33 シグナルが必須であることを見出した(Muto T et al. Int Immunol 2014)。さらに、フィラグリン発現低下により誘導されるアトピー性皮膚炎モデルにおいて、皮膚を弱酸性に保つことによりプロテアーゼの活性化が抑制され、バリア機能が回復すること、経皮感作により誘導される他臓器のアレルギーの発症を抑制できることを見出した(Lee HJ et al. Exp Dermatol 2017)。

上記で得られた知見を臨床に生かすべく、現在 JAK 阻害薬の臨床試験 (Phase II)を進めている。また、IL-31 の中和抗体の国際共同臨床試験 (Phase II)を実施し、抗 IL-31 中和抗体がかゆみを阻害すること、そしてかゆみを抑制することが、のちに皮疹そのものの改善にも繋がることを検証した(Ruzicka T et al. N Engl J Med accepted)。さらに、マウスで我々が見出した iSALT と同様の構造が、ヒトの皮膚内にも存在する事も見出した(Kogame et al. Br J Dermatol 2017)。

以上より、(1)皮膚恒常性維持におけるバリア、免疫、かゆみの役割、(2)皮膚と他臓器のアレルギークロストーク機構の解明、(3) マウスで得られた知見の臨床への還元、という3つ研究成果を得た。皮膚をプラットフォームにアレルギー全般の発症機序の解明に繋がらう研究成果であることが期待される。

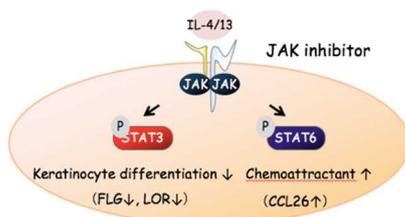
(2) 詳細

研究テーマ A 「皮膚の恒常性維持機構の解明」

(1) バリア、免疫・アレルギー、かゆみの三要素から捉えた皮膚の恒常性維持機構の解明

表皮角化細胞における JAK1 のドミナントアクティブな JAK1 変異マウスがアトピー性皮膚炎を自然に発症する事をまず見出した。JAK-1 バリア機能が障害された小動物を作製し、バリア破壊が経皮感作に繋がることを見出した(Yasuda T et al. J Clin Invest 2016)。

また、アトピー性皮膚炎のバリア障害における、JAK-STAT シグナルが関与することを特定し、JAK シグナルを阻害する新規化合物が、バリア機能を回復させ、さらに免疫応答の減弱にもつながることを確認した (Amano W et al. J Allergy Clin Immunol. 2015)。



また、IL-31 シグナルを阻害することにより、かゆみを抑制できること、そしてさらにアトピー性皮膚炎の炎症そのものをも制御できることを検証した(Ruzicka T et al. N Engl J Med accepted)。以上より、皮膚の恒常性維持において、バリア、免疫、かゆみの 3 つの要素が三位一体となって役割を果たしていることが明らかとなった。

(2) Inducible Skin-Associated Lymphoid Tissue (iSALT)の提唱

二光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング技術を接触皮膚炎モデルに応用することにより、真皮後毛細血管静脈周囲において抗原特異的メモリーT細胞の活性化が誘導されることを見出した(Natsuaki Y et al. Nat Immunol 2014)。その際に、表皮角化細胞が産生するIL-1aが血管周囲マクロファージに作用してCXCL2ケモカインの発現を誘導し、真皮樹状細胞が後毛細血管周囲に集積するという分子機序も解明した。

一方、接触皮膚炎反応の惹起時に樹状細胞サブセットを除去する系を用いて責任樹状細胞の同定を試みた。ランゲルハンス細胞を除去しても炎症は減弱しなかったが、真皮樹状細胞を除去することにより炎症反応の増悪が認められた。従ってハプテンのような低分子の抗原に曝露された際には真皮に存在する樹状細胞が重要であることが示唆された(Natsuaki Y et al. Nat Immunol 2014)。



研究テーマ B 「皮膚と他臓器のアレルギークロストーク」

(1) アレルギーマーチの発症機序

卵白アルブミンを用いた経皮感作による IgE 誘導の際に、好塩基球と TSLP が重要であることを好塩基球と TSLP 受容体欠損マウスを用いて見出した。また、経皮感作を介した IgE 誘導により、経口での OVA チャレンジが食物アレルギーを誘発することを示し、さらにその際には IL-33 シグナルが必須であることを見出した(Muto T et al. Int Immunol 2014)。以上より、経皮感作を介した他臓器のアレルギー誘導機構(アレルギーマーチ)の機序の一端が明らかとなった。

(2) 経皮感作を防ぐことによる他臓器アレルギーの予防機序

フィラグリン発現低下により誘導されるアトピー性皮膚炎モデルにおいて、皮膚を弱酸性にすることによりバリア機能が回復し、さらに経皮感作により誘導される他臓器のアレルギーの発症が抑制できることを見出した(Lee HJ et al. Exp Dermatol 2017)。この事実より、皮膚バリア機能の保持により他臓器のアレルギーの制御にも繋がることが示唆された。

研究テーマ C 「マウスで得られた知見のヒトへの還元」

(1) JAK 阻害薬と IL-31 中和抗体の臨床応用

上記で得られた知見を臨床に生かすべく、現在 JAK 阻害作用を有する化合物の外用剤を開発し、アトピー性皮膚炎における臨床試験 (Phase II) を進めている。また、マウスの実験結果より、かゆみを阻害することが想定されていた IL-31 を標的とした中和抗体の国際共同臨床試験 (Phase II) を実施し、IL-31 の阻害がかゆみを抑制すること、そしてかゆみの抑制が皮疹そのものの改善にも繋がることを検証した (Ruzicka T et al. N Engl J Med accepted)。以上より、マウスで得られた知見が、アトピー性皮膚炎の臨床現場に応用されつつある。

(2) ヒトにおける iSALT 様の構造の発見

我々はマウスの皮膚に iSALT を見出したが、ヒトでも iSALT が存在するのかは不明であった。そこで、梅毒患者の皮膚病理組織を検討することにより、CXCL13 陽性の線維芽細胞様の細胞を中心とした iSALT 様の構造がヒトの皮膚内にも存在する事を見出した (Kogame et al. Br J Dermatol 2017)。ヒトの皮膚においてもメモリー T 細胞が活性化される部位が存在することが推測される。

3. 今後の展開

研究テーマ A 「皮膚の恒常性維持機構の解明」

(1) バリア、免疫・アレルギー、かゆみの三要素から捉えた皮膚の恒常性維持機構の解明

我々は、皮膚の恒常性維持において、バリア、免疫、かゆみの 3 つの要素が三位一体となって役割を果たしていることを明らかにした。今後はアトピー性皮膚炎患者の個人における 3 要素の関与を相対的に評価することによる新たな治療方針の確立に尽力したい。

(2) Inducible Skin-Associated Lymphoid Tissue (iSALT) の提唱

接触皮膚炎モデルを用いることにより、真皮後毛細血管静脈周囲において抗原特異的メモリー T 細胞の活性化が誘導されることを見出した。今後は、iSALT を標的にした皮膚免疫応答の制御を目指したい。現在メラノーマの治療に応用されている抗 PD-1 抗体の作用機序は、iSALT に集積する CD8T 細胞の機能を調節している可能性も十分にあると申請者は考えている。

研究テーマ B 「皮膚と他臓器のアレルギークロストーク」

(1) アレルギーマーチの発症機序

卵白アルブミンを用いた経皮感作による IgE 誘導の際に、好塩基球と TSLP が重要であることを好塩基球と TSLP 受容体欠損マウスを用いて見出した。現在は IgE がアレルギーマーチの進展における鍵と考えられているので、IgE の誘導機構の詳細を解析している。

(2) 経皮感作を防ぐことによる他臓器アレルギーの予防機序

フィラグリン発現低下により誘導されるアトピー性皮膚炎モデルにおいて、皮膚を弱酸性にすることによりバリア機能が回復し、さらに経皮感作により誘導される他臓器のアレルギーの発症が抑制できることを見出した。上記結果はマウスを用いた解析に留まるため、今後は本機序が臨

床でも応用できるかどうかを検証したい。

研究テーマ C 「マウスで得られた知見のヒトへの還元」

(1) JAK 阻害薬と IL-31 中和抗体の臨床応用

JAK 阻害外用剤と IL-31 の中和抗体の第 2 相臨床試験を無事終了した。今後も引き続き第 3 相臨床試験へと展開させ、臨床応用にむけた検討を継続する。

(2) ヒトにおける iSALT 様の構造の発見

梅毒患者の皮膚病理組織の検討により iSALT 様の構造をヒトの皮膚内に見出した。今後は梅毒以外の各種皮膚疾患における iSALT の存在を検証し、その生理的役割の解明を図りたい。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

研究目的の達成状況

本研究の目的として、(1)皮膚の恒常性維持機構の解明、(2)皮膚と他臓器のアレルギークロストーク、(3)マウスで得られた知見の臨床への還元という3つの課題を掲げた。いずれの目標においても進捗があったと感じている。研究成果の多くは論文発表に至っているが、一部の成果は現在論文作成の段階にある。これらの研究成果もきちんと論文発表まで至るように心がけたい。

研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)

本プロジェクトは 2 名の大学院生、1 名の実験助手が最終の研究体制で行っている。大学院生が上記の各研究課題を一部担当し、それらの進捗状況を代表研究者が総括している。

研究費の執行は滞りなく進んだものとする。

研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果

本研究により、我々は、皮膚の恒常性維持において、バリア、免疫、かゆみの 3 つの要素が三位一体となって役割を果たしていることを明らかにした。今後はアトピー性皮膚炎患者の個人における 3 要素の関与を相対的に評価し、新たな治療方針の確立に繋がる可能性がある。

また、iSALT という皮膚免疫応答を誘導するのに重要な場を見出した。今後は、iSALT を標的にした皮膚免疫応答の制御を目指し、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性皮膚疾患のみならず、メラノーマなどの悪性腫瘍に対する新規治療標的として展開する可能性を検証したい。

さらに、アレルギーマーチの進展に際し鍵となる細胞と分子機序の同定を行った。皮膚を標的として他臓器アレルギーの制御にも取り組み、アトピー性皮膚炎のみならず、喘息や食物アレルギーなどの克服を目指したい。

これらの小動物を中心とした研究結果を臨床に還元するために、JAK 阻害薬と IL-31 中和抗体をアトピー性皮膚炎の臨床応用を進めている。新たなアトピー性皮膚炎の治療薬をできるだけ早

期に国民に届けたい。アトピー性皮膚炎は、かゆみによる不眠などで患者の QOL の低下に関わるため、アトピー性皮膚炎を副作用の少ない治療で克服することにより、社会に貢献したい。

その他領域独自の評価項目

さきがけ研究を開始してから、研究を巡る環境が飛躍的に向上した。平成 27 年 6 月に京都大学皮膚科学教室の教授就任し、日本皮膚科学会、世界皮膚科連合や日本炎症再生学会の理事、日本アレルギー学会や免疫学会の評議員に選出され、臨床と基礎研究の両方の領域に於いて責任ある仕事に関わる機会が増えた。自身のサイエンスの向上のみならず、日本や世界のサイエンスの発展に今後も貢献できるように尽力したいと思う。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究課題では、皮膚の動的恒常性維持機構について検討を行った。その結果、アトピー性皮膚炎において皮膚のバリア機能、炎症反応、かゆみに対して JAK シグナル、IL-31 シグナルがマウスにおいて重要であることを示し論文発表するとともに、臨床でも確認中である。基礎的には皮膚内でメモリー T 細胞が抗原提示を受けて活性化する場を世界で初めて特定して論文発表している。また、経皮感作による食物アレルギーの誘発のようなアレルギーマーチの機序の一端を解明して論文発表している。このように基礎研究の成果が臨床での実用化に向けて着実に研究が進められている。

さきがけの研究予算は細胞分取装置導入を増額予算で実施し、研究を加速させた。さきがけ研究の期間の途中で准教授から教授へと昇進し、基礎研究と臨床全体を主宰する立場となり、今後の飛躍が十分に期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Ruzicka T, Hanifin JM, Furue M, Pulka G, Mlynarczyk I, Wollenberg A, Galus R, Etoh T, Mihara R, Yoshida H, Stewart J, and Kabashima K. A Phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study to evaluate the safety, tolerability, and efficacy of CIM331 in atopic dermatitis patients who are inadequately controlled by or intolerant to topical therapy (EXCIMA study). *New Engl J Med.* 2017 (in press)
2. Sachiko Ono, Gyohei Egawa, Akihiko Kitoh, Teruki Dainichi, Atsushi Otsuka, Saeko Nakajima, Tetsuya Honda, and Kenji Kabashima. Local inflammation exacerbates cutaneous manifestations in a murine autoimmune pemphigus model. *J Allergy Clin Immunol.* (in press)
3. Amano W, Nakajima S, Kunugi H, Numata Y, Kitoh A, Egawa G, Dainichi T, Honda T, Otsuka

A, Kimoto Y, Yamamoto Y, Tanimoto A, Matsushita M, Miyachi Y, Kabashima K. The Janus kinase inhibitor JTE-052 improves skin barrier function through suppressing signal transducer and activator of transcription 3 signaling. J Allergy Clin Immunol. 2015 Sep;136(3):667-677

4. Sawada Y, Honda T, Hanakawa S, Nakamizo S³, Murata T, Ueharaguchi-Tanada Y, Ono S, Amano W, Nakajima S, Egawa G, Tanizaki H, Otsuka A, Kitoh A, Dainichi T, Ogawa N, Kobayashi Y, Yokomizo T, Arita M, Nakamura M, Miyachi Y, Kabashima K. Resolvin E1 inhibits dendritic cell migration in the skin and attenuates contact hypersensitivity responses. J Exp Med. 2015 Oct 19;212(11):1921-30.

5. Natsuaki Y, Egawa G, Nakamizo S, Ono S, Hanakawa S, Okada T, Kusuba N, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Nakajima S, Tsuchiya S, Sugimoto Y, Ishii KJ, Tsutsui H, Yagita H, Iwakura Y, Kubo M, Ng Lg, Hashimoto T, Fuentes J, Guttman-Yassky E, Miyachi Y, Kabashima K. Perivascular leukocyte clusters are essential for efficient activation of effector T cells in the skin. Nat Immunol. 2014 Nov;15(11):1064-9.

(2)特許出願

研究期間累積件数:2件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 椛島健治 日本テレビ 世界で一番受けさせたい授業 平成 25 年 10 月 30 日放送
アトピー性皮膚炎の発症機序に関する話題 対象者:一般市民
2. 椛島健治 BS日テレ 深層ニュース 平成 25 年 12 月 20 日放送 アトピー性皮膚炎
の発症機序に関する話題 対象者:一般市民
3. 第 1 回 ポーラファルマ Rising Star 賞 平成 26 年 9 月 11 日
4. 第 11 回 日本学術振興会賞 平成 27 年 2 月 24 日