

細胞死に陥りつつある角化細胞が皮膚線維化を誘導する ～皮膚炎症後のリモデリング機構を解明～

移植片対宿主病は、血液悪性疾患の治療で行われる骨髄移植の副作用で、ドナー骨髄細胞がレシピエント臓器組織を攻撃することで起こります。慢性化すると皮膚が硬くなり(線維化)、患者のQOLを低下させます。この症状は、炎症後のリモデリング(組織の再構築)と考えられてきましたが、詳細は不明です。

本研究では、慢性移植片対宿主病では、急性の場合と比べ、表皮を構成する角化細胞において、線維化を誘導するサイトカインの一つであるトランスフォーミング増殖因子 β (TGF β)が強く発現していることを見出しました。疾患モデルマウスでは、皮膚内に広がるドナー細胞傷害性T細胞が角化細胞死を誘導し、ヒトと同様にTGF β を強発現して、皮膚線維化が惹起された一方、インターフェロン γ (IFN γ 、炎症を促進するサイトカイン)欠損ドナーT細胞では線維化は起きません。そこで、培養角化細胞に様々な形態の細胞死を誘導したところ、プログラムされた細胞死であるアポトーシスに陥った角化細胞からTGF β が最も多く産生され、この産生はIFN γ 添加により増強されました。

このことは、角化細胞が、アポトーシスに陥る際にIFN γ の刺激を受けて線維化を誘導する細胞であることを示唆しています。皮膚粘膜疾患には、線維化が進むものとそうでないものがあり、本研究結果に基づくと、その違いを、角化細胞がアポトーシスに陥ることと、IFN- γ の豊富な環境にあることの2つの条件が揃うかどうかで説明することができます。本研究結果から、皮膚線維化を起こす一群の皮膚粘膜疾患に対する特異的な治療法の開発が期待されます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

沖山 奈緒子 講師

研究の背景

移植片対宿主病は、血液悪性疾患に対する治療として行われる同種異系骨髄移植の副作用であり、ドナー骨髄細胞が、異なる主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex, MHC) ^{注1)} を持つレシピエント臓器組織を非自己と認識して攻撃することで起こります。その対象臓器は主に皮膚粘膜、肝臓、腸管で、急性期には皮膚粘膜では時にびらん化する丘疹・紅斑が生じ、表皮に多数のアポトーシスが観察される、苔癬反応 (Interface dermatitis) と呼ばれる病理組織像を呈します。適切な免疫抑制治療により寛解が継続できる症例も多くありますが、慢性期に移行した、もしくは慢性期になってから発症した症例では、扁平苔癬様と称される、病理学的には苔癬反応を呈する角化性紅斑や口腔内びらんと瘢痕 (はんこん) 化、爪甲の破壊と萎縮、斑状または強皮症様びまん性皮膚線維化が混じる症状となって、患者のQOLを著しく低下させます。これらの炎症反応は、ドナー由来の細胞傷害性 CD8 T 細胞によるものと考えられます。

この皮膚線維化は、炎症後のリモデリングであると一般に理解されていますが、その詳細は不明で、特異的な治療法もありません。他に苔癬反応を呈する疾患である、重症薬疹の Stevens-Johnson 症候群や中毒性表皮壊死症、膠原病の皮膚ループスエリテマトーデスでも皮膚線維化を起こしますし、眼粘膜の線維化では失明の恐れもあります。一方、同様に表皮・上皮に生じる炎症性皮膚粘膜疾患であっても、苔癬反応を呈さない接触皮膚炎やアトピー性皮膚炎、乾癬などでは、皮膚線維化は大きな問題になりません。また、II 度熱傷では、表皮が欠損しても線維化を残さず治癒しますが、真皮まで大きく欠損する III 度熱傷では線維化し、瘢痕拘縮 (引きつれ) を残します。このように、リモデリングと一言と言っても、皮膚線維化を残す場合と残さない場合があり、その機構は明確ではありませんでした。

研究内容と成果

本研究ではまず、慢性移植片対宿主病症例の皮膚生検検体では、急性移植片対宿主病症例の検体と比べて、表皮角化細胞が、代表的な線維化誘導サイトカインであるトランスフォーミング増殖因子 (Transforming growth factor, TGF) β を強く発現していることを見出しました (図 1)。

そこで、皮膚粘膜移植片対宿主病のモデルマウス (OT-I 細胞^{注2)} 移入ケラチン 14 プロモーター下卵白アルブミントランスジェニックマウス、OT-I cell-transferred K14-mOVA Tg マウス) を用いて、皮膚線維化が生じる機構を詳細に解析しました。このモデルマウスでも、OT-I 細胞移入後 2 週間以内には、びらん化する急性移植片対宿主病様皮膚粘膜疾患を発症しますが、移植後 28 日目にはびまん性皮膚硬化により、強皮症様の慢性移植片対宿主病様皮膚線維化を呈してきます。その際、皮膚に浸潤する OT-I 細胞は、細胞死を誘発するタンパク質分解酵素であるグランザイム B を産生して表皮角化細胞死を誘導しますが、同時に、代表的な炎症性サイトカインであるインターフェロン (interferon, IFN) γ も産生しており、このとき角化細胞は TGF β を強く発現していました。一方、IFN γ 欠損 OT-I 細胞移入時には、レシピエント K14-mOVA Tg マウスは急性移植片対宿主病様皮膚粘膜傷害は起こすものの、そのあとの慢性移植片対宿主病様皮膚線維化は起こしませんでした (図 2)。

培養角化細胞を用いた実験では、角化細胞に様々な細胞死の形態である、ネクローシス (損傷などによる偶発的な細胞の膨張破裂)、アポトーシス (プログラムされた細胞死)、ネクロプトーシス (制御されたネクローシス) を誘導したところ、アポトーシスとなった角化細胞が最も多くの TGF β を産生しました。またこの産生は IFN γ 添加によって増強され、アポトーシス阻害薬添加によって抑制されました (図 3)。

以上のことから、慢性移植片対宿主病においては、皮膚に浸潤してきた病原性 CD8 T 細胞が IFN γ を産生しながら、パーフォリン-グランザイム経路^{注3)} を使って角化細胞をアポトーシスに陥らせると、その角化細胞が TGF β を産生し、真皮の線維芽細胞に働きかけて皮膚線維化を誘導していることが示唆さ

れました (図 4)。つまり、角化細胞がアポトーシスに陥るときに、皮膚線維化を引き起こしてしまうことが、この病態における「リモデリング」の本態と考えられます。

今後の展開

本研究成果は、慢性移植片対宿主病のみならず、皮膚線維化を残すことが問題となる重症薬疹の Stevens-Johnson 症候群や中毒性表皮壊死症、膠原病の皮膚ループスエリテマトーデスにおいて、IFN γ 標的治療やアポトーシス阻害薬が、線維化を制圧するための治療選択肢となり得ることを示唆しています。

IFN γ は、そのものを線維芽細胞に添加するとコラーゲン産生を抑制することから、長く「抗線維化サイトカイン」とされており、これを、全身性の線維化疾患である、膠原病の強皮症の治療に使う試みもなされてきましたが、失敗しています。本研究成果は、その理由が、IFN γ は角化細胞を介して線維化誘導をしている経路があるためであることも示しています。

アポトーシス阻害薬は、肝硬変治療薬やアルツハイマー病治療薬などで臨床応用に向けて研究が進められており、慢性移植片対宿主病のような角化細胞アポトーシスを基盤とした皮膚線維化疾患に対する臨床応用も期待されます。

参考図

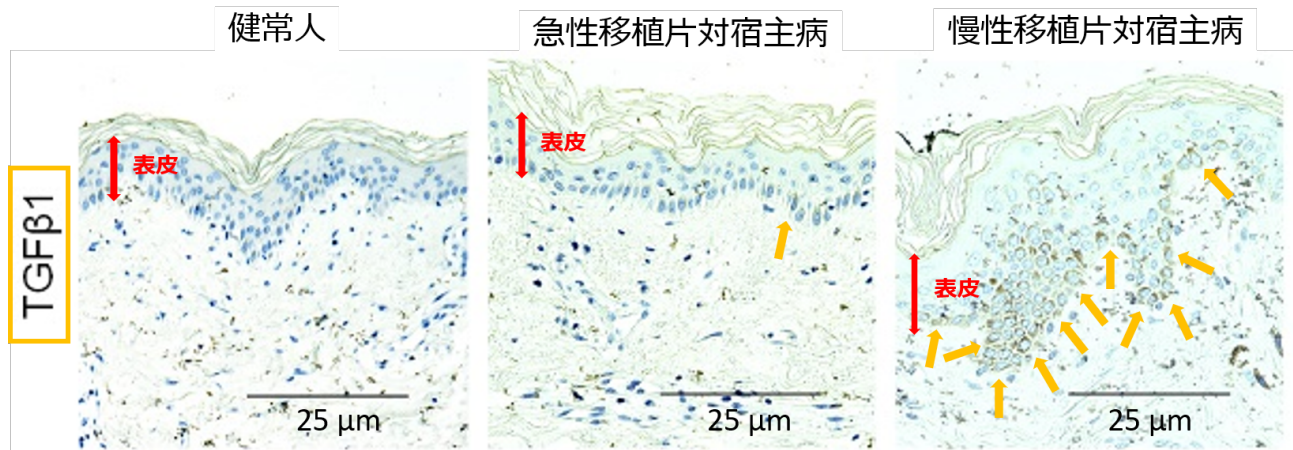


図 1 健康人、急性移植片対宿主病症例、慢性移植片対宿主病症例の皮膚生検組織における表皮角化細胞でのトランスフォーミング増殖因子 β 1 (TGF β 1) 発現 (免疫組織学的染色、黄色矢印で示した箇所)

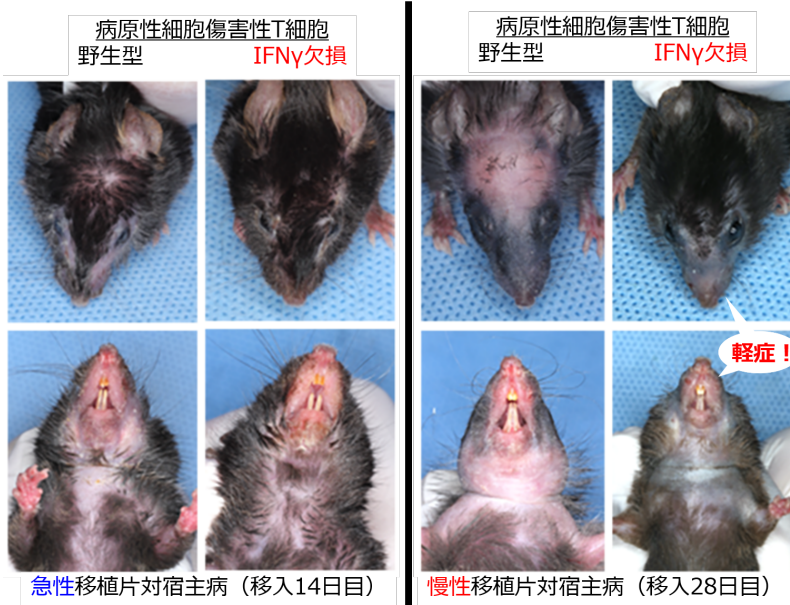


図2 インターフェロン (IFN) γ 欠損病原性細胞傷害性 T 細胞移入時の急性期と慢性期の皮膚症状

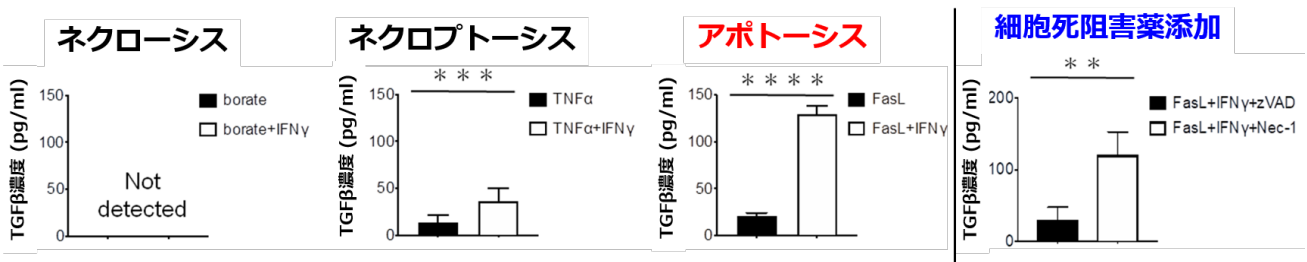


図3 (左) 培養角化細胞にネクローシス誘導 (borate)、ネクロプトーシス誘導 (TNF α)、アポトーシス誘導 (FasL) し、さらに IFN γ 添加した際の培養上清中 TGF β 濃度
(右) FasL でアポトーシスを誘導し、IFN γ を添加した培養角化細胞に、アポトーシス阻害薬 (zVAD) やネクロプトーシス阻害薬 (Nec-1) 添加した際の培養上清中 TGF β 濃度

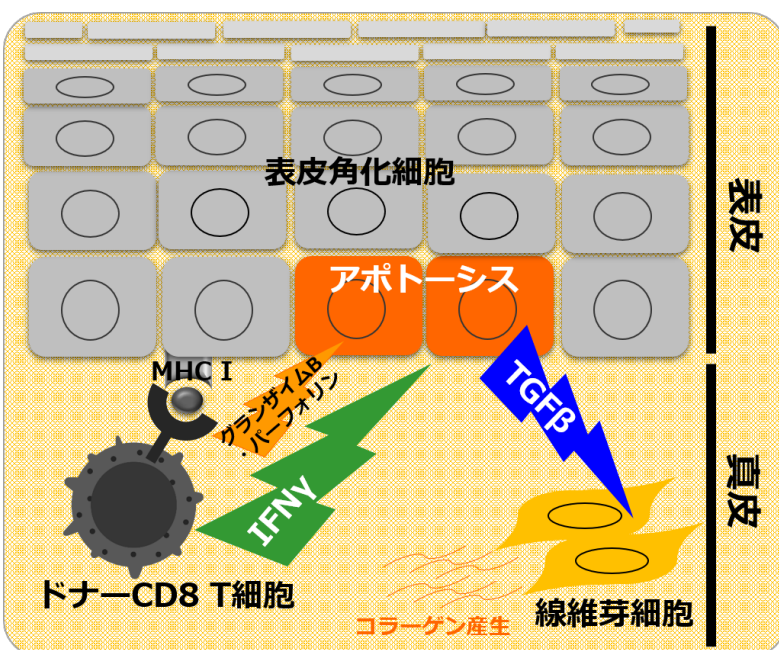


図4 アポトーシスとなった角化細胞と IFN γ 、TGF β の関係模式図

用語解説

注1) 主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex, MHC)

脊椎動物の細胞膜表面に発現する分子またはそれをコードする遺伝子。主にクラスIとクラスIIの2種類があり、クラスIはすべての細胞に発現しており、個体によって多様性に富むため、自己と非自己の区別に用いられる。MHCに外来または内因性抗原のペプチド断片が提示されると、それをT細胞のT細胞受容体が認識することで活性化され、免疫反応が惹起される。

注2) OT-I細胞

卵白アルブミン (OVA) に対応するT細胞受容体を持つCD8 T細胞。特異的抗原として実験的によく用いられる。OVA特異的T細胞受容体を遺伝子導入したOT-Iマウスより回収する。

注3) パーフォリン-グランザイム経路

細胞傷害性T細胞は、特異的な抗原刺激を受けると、パーフォリンとグランザイム (セリン・プロテアーゼの一種で、グランザイムBが主体) を放出し、パーフォリンは筒状の重合体を作って、目的とする細胞の細胞膜を貫通させる。この孔を通して、グランザイムが細胞内に侵入し、DNA切断酵素を活性化することで、細胞のDNAが切断され、細胞死 (アポトーシスと言われている) が起きる。

研究資金

本研究は、第9回ロート皮膚医学研究賞 (日本皮膚科学会皮膚医学研究基金) (沖山奈緒子)、日本学術振興会科学研究費補助金 (科研費) 若手研究 (B) (18076570: 齊藤明允) によって実施されました。

掲載論文

【題名】 Interferon- γ -stimulated apoptotic keratinocytes promote sclerodermatous changes in chronic graft-versus-host disease

(インターフェロン γ 刺激アポトーシス角化細胞は慢性移植片対宿主病の皮膚線維化を制御する)

【著者名】 Akimasa Saito, Yuki Ichimura, Noriko Kubota, Ryota Tanaka, Yoshiyuki Nakamura, Yasuhiro Fujisawa, Rei Watanabe, Yosuke Ishitsuka, Manabu Fujimoto, Naoko Okiyama

【掲載誌】 Journal of Investigative Dermatology

【掲載日】 2020年11月24日

【DOI】 10.1016/j.jid.2020.09.033

問い合わせ先

【研究に関すること】

沖山 奈緒子 (おきやま なおこ)

筑波大学 医学医療系 講師

URL: <https://dermatology-tsukuba.org/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp