

新規脂質フローを基盤とした免疫アレルギー制御機構の解明

武富芳隆

東京都医学総合研究所 脂質代謝プロジェクト

【研究の背景】

我々は、未解明であった局所環境依存的なマスト細胞の成熟は、マスト細胞から分泌されるリン脂質代謝酵素ホスホリパーゼ A₂ (sPLA₂-III) のパラクリン作用によって局所環境に動員される脂質サーキットにより制御されることを発見した¹⁾⁻³⁾。さらに、本酵素の機能に関する研究を単純なアレルギーから免疫応答に関わる複合型アレルギーへと展開し、(1) sPLA₂-III はマスト細胞以外にも様々な細胞に時空間的に発現し、本酵素の欠損によって複数の細胞機能が変容すること、(2) 当該欠損マウスでは即時型アレルギーとは異なり皮膚免疫アレルギー疾患が増悪することを見出した。

【目 的】

本研究では皮膚免疫アレルギー疾患を発症するまでの一連のプロセスにおいて、新規酵素 sPLA₂-III が影響を及ぼす根幹のマシナリーを特定するとともに、本酵素が動員する鍵脂質分子を同定することで、脂質による免疫アレルギー制御の新機軸を創成することを目的とした。

【方 法】

sPLA₂-III 欠損マウスに獲得免疫応答依存的 (接触性・アトピー性・乾癬) 及び非依存的 (一次刺激性) な皮膚疾患を施行し、免疫応答、皮膚炎症、皮膚バリア機能を精査した。骨髓移植や各種免疫細胞の移植再構成実験、皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスを駆使して本酵素の責任細胞を特定した。脂質メタボローム解析により sPLA₂-III とリンクする鍵脂質分子を探索した。研究を *in vitro* 培養系へと還元し、sPLA₂-III 欠損による表皮細胞の変容を解析した。

【結 果】

sPLA₂-III 欠損マウスでは獲得免疫のタイプによらず全ての皮膚疾患が増悪した。また欠損マウスの免疫バランスは Th2 優位へとシフトした。この皮膚炎の増悪にはマスト細胞の sPLA₂-III は関与せず、非骨髓系細胞に発現する sPLA₂-III が重要であることが判明した。皮膚において sPLA₂-III の局在はマスト細胞以外に表皮細胞に認められ、表皮細胞の分化に伴い発現誘導された。本欠損マウスでは皮膚バリアが乱れており、保湿に乏しい皮膚を呈した。この皮膚バリア異常及び皮膚炎の増悪は皮膚特異的 sPLA₂-III 欠損マウスで再現された。

脂質メタボローム解析により、sPLA₂-III は皮膚中のリン脂質 (ホスファチジルエタノールアミン) を分解した。さらに、当該欠損マウスの皮膚中では高度不飽和脂肪酸とそれらの代謝物が減少した。脂質代謝酵素・受容体の欠損マウスを包括的に用い (15 系統)、上記候補脂質のうちプロスタグランジン (PG) E₂ 及び PGF_{2α} の受容体 EP4、FP の欠損マウスで sPLA₂-III 欠損マウスと同様の皮膚バリア異常及び皮膚炎の増悪を発症することが判明した。

sPLA₂-III 欠損表皮細胞は増殖が低下し、分化が亢進した。さらに、欠損細胞では刺激に伴う Th2 誘導性サイトカイン (IL-33 等) の発現が増強した。EP4 及び FP 受容体は表皮細胞の分化に伴い発現が上昇した。FP 受容体作動薬は sPLA₂-III 欠損による表皮細胞の過分化を正常化し、FP 及び EP4 受容体作動薬はともに本細胞での Th2 誘導性サイトカインの発現増強を抑制した。

【考 察】

皮膚最外層の表皮は 4 層から成り、表皮細胞が外層へ向かって分化することにより角質を形成する。角質間脂質(セラミド、コレステロール、脂肪酸)はバリア脂質とも呼ばれ、皮膚バリア機能に重要であるが、このうち脂肪酸が動員されるプロセスは未解明である。本研究では、皮膚バリア機能とリンクする脂質代謝酵素のひとつとして sPLA₂-III を同定した。sPLA₂-III は表皮細胞の分化を調節しており、本欠損マウスでは表皮細胞の分化異常を引き金として皮膚のバリア恒常性が乱れ、このため免疫バランスが Th2 優位へとシフトすることで皮膚疾患が増悪するものと推察された。

本酵素は皮膚中のリン脂質を分解してアラキドン酸をはじめとする高度不飽和脂肪酸の動員に関わることを見出した。さらに、sPLA₂-III の下流で機能する鍵脂質分子として PGE₂ 及び PGF_{2α} を同定した。PGE₂ は炎症時の皮膚の修復に資することが想定されてきたが、その責任受容体は EP4 であることを見出した。さらに、PGF_{2α} が皮膚バリアとリンクすることが示された例はなく、脂質メディエーターの新しい生理作用を発見したといえる。sPLA₂-III の下流で PGF_{2α}-FP 経路は表皮細胞の適切な分化を、本経路及び PGE₂-EP4 経路は協調して 2 型自然免疫応答の抑制と Th2 応答を制御することが考えられた。

本研究によって、皮膚バリア制御に関わる脂質代謝酵素 (sPLA₂-III) を起点とした脂肪酸の動員プロセスと責任脂質、当該脂質シグナル軸による表皮細胞制御のメカニズムが明らかとなった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

sPLA₂-III が動員する脂質シグナル軸は、アトピー性皮膚炎等の難治性アレルギー疾患の創薬標的になり得る。特に FP や EP4 等の脂質受容体を賦活化する戦略は、既存の選択的作動薬の適用が可能な点で現実的である。さらに、これらの脂質あるいは脂質受容体の変動は疾患とリンクすることが想定され、新しいバイオマーカーの同定につながる。今後、マウスモデルやヒトにおける検証を行うことにより、当該脂質シグナルを応用とした創薬展開への基盤を構築する。

【参考・引用文献】

- 1) Taketomi Y, et al. *Nat Immunol* 14, 554–563 (2013).
- 2) Murakami M, Taketomi Y. *Allergol Int* 64, 4–10 (2015).
- 3) Murakami M, et al. *J Lipid Res* 56, 1248–1261 (2015).