

アトピー性皮膚炎患者血漿中の脂質メディエーター
プロファイルの同定と病態との関係性について(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程

内科系皮膚科学専攻

田杭 真帆

2022 年

指導教員 藤田 英樹

背景

アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis ; AD) は、「増悪と寛解を繰り返す瘙痒のある湿疹を主病変とする疾患であり、患者の多くはアトピー素因を持つ」と定義されている¹。アトピー素因とは、気管支喘息やアレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、アトピー性皮膚炎の家族歴・既往歴、あるいは IgE

(Immunoglobulin E) を産生し易い素因を意味する。AD の病態は「皮膚のバリア機能破綻」「2 型炎症を主体とした免疫学的異常」「瘙痒」を主軸とし、これらの要素が互いに影響し合って病態を形成・進行していくと考えられている。

皮膚の最外層に位置する角質層では、角質細胞間を埋める角質細胞間脂質と、角層内の水分保持や強度に貢献するフィラグリンが物理的バリアの構成要素として重要である。しかし、AD 患者では角質細胞間脂質の主成分であるセラミド含有率が低下しており²、また一部の AD 患者では遺伝子変異によるフィラグリンの発現低下がみられる³。そのため角質層バリア機能低下が起こり、皮膚の乾燥や、外界からの病原微生物やアレルゲンの侵入が起こりやすくなっている。アレルゲンが侵入すると、傷害された表皮角化細胞から

Interleukin (IL) -33、IL-25、thymic stromal lymphopoietin (TSLP) などの上皮細胞由来サイトカインが放出される⁴。これらのサイトカインは 2 型炎症への偏移を誘導し、Th2 細胞が IL-4、IL-13、IL-31、IL-5 などの 2 型サイトカインを産生する⁵。IL-4 や IL-13 は表皮細胞の JAK/STAT (Janus kinases/signal transducers and activators of transcription) 経路を活性化させ、フィラグリン発現を低下させ、バリア機能障害を誘導させる⁶。IL-4 は B 細胞に作用して IgE を産生させ、アレルゲン特異的な IgE がマスト細胞の高親和性 IgE 受容体 FcεRI に結合し、IgE にアレルゲンが結合すると、FcεRI が架橋されヒスタミンなどの生理活性物質が放出されて炎症や瘙痒を惹起する。IL-31 は知覚神経を刺激して瘙痒を引き起こす⁷。瘙痒は搔破を誘導し、繰り返す搔破はさらにバリア機能障害を増悪させる。IL-5 は皮膚炎局所への好酸球の遊走を誘導する。こうした悪循環が AD を誘発し、遷延化させる。また近年では 2 型サイトカインを産生する機序として、AD の病変部で有意に増加している 2 型自然リンパ球

(innate lymphoid cell type 2 ; ILC2) が、上皮細胞から放出された IL-33、IL-25 および TSLP の刺激によって IL-4 や IL-13 を産生し、病態に関与していることが明らかになってきている⁸。

AD の重症度評価は、頭頸部・体幹・上肢・下肢の 4 ヲ所において湿疹面積と紅斑、浮腫/丘疹、搔破痕、苔癬化をスコア化する Eczema Area and Severity Index (EASI)⁹ や、直近 1 週間の症状を患者自身がスコア化する Patient-

Oriented Eczema Measure (POEM)¹⁰ という方法が主体である。また、血清 Thymus and activation-regulated chemokine (TARC) 値は AD の短期間の病勢を反映するため治療効果をみるバイオマーカーとして有用だが、成人と小児で基準値が異なり¹¹、また重症度スコアが同程度でも患者間で値に差があるため¹²、客観的な判断材料となる AD の重症度のバイオマーカーは、未だない。

多価不飽和脂肪酸は、メチル基末端から数えた二重結合の位置により $\omega 6$ 系と $\omega 3$ 系に分けられる。リノール酸やアラキドン酸 (arachidonic acid ; AA) は $\omega 6$ 系であり、 α リノレン酸や魚油に多く含まれるエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid ; EPA) およびドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid ; DHA) は $\omega 3$ 系に分類される。哺乳動物は、これらの多価不飽和脂肪酸を体内で生合成することが出来ないため、必須栄養素として食物から摂取する必要がある。一般的に、 $\omega 6$ 系脂肪酸に対して $\omega 3$ 系脂肪酸の比率が高いほど炎症性疾患やがんに対して抵抗性になるということが数多く報告されている^{13,14}。

$\omega 6$ 系脂肪酸である AA にシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase ; COX) が作用するとプロスタグランジン (prostaglandin ; PG) が産生され、リポキシゲナーゼ (lipoxygenase ; LOX) が作用するとロイコトリエン (leukotriene ; LT) が産生される。これらは、炎症急性期に浮腫、発赤、痛みや発熱を誘導する強力な炎症性メディエーターである。一方で、AA からはリポキシン (lipoxin ; LX) と呼ばれる抗炎症性脂質メディエーターも生成される¹⁵。

従来、 $\omega 3$ 系脂肪酸は、 $\omega 6$ 系脂肪酸から代謝される炎症性メディエーターに拮抗することで炎症を抑制すると考えられてきたが、近年、 $\omega 3$ 系脂肪酸自体にも炎症抑制作用があることが分かってきた^{16,17}。具体的には、EPA 由来のレゾルビン E (resolvin E ; RvE) 系、DHA 由来のレゾルビン D (resolvin D ; RvD) 系やプロテクトイン D1 (protectin D1 ; PD1) などである。

AD の発症における脂質メディエーターの役割に関してはいくつか報告されている。PGE₂-EP2 シグナル伝達系がケラチノサイトにおける TSLP の発現を抑制し、マウスの AD 様皮膚炎を抑えるという報告があり、AD の発症において PGE₂ は抗炎症性に働くことが推測されている¹⁸。その他 AD 患者の病変部位では非病変部位と比較して PGE₂ と LTB₄ の濃度が上昇していたという報告や¹⁹、AD 患者の尿中の LTE₄ 量が血清 IgE 値と正の相関を示すなどの報告があり²⁰、PG や LT などの脂質メディエーターが AD の発症に関与していると推測されている。

近年、液体クロマトグラフィーによる分離技術の向上と、質量分析の普及によって、脂質の網羅的解析が可能となった。脂質メディエーターの網羅的解析はリピドミクスと呼ばれ、脂質の包括的な研究手段として注目されている。AD の分野では、角質細胞間脂質の主成分であるセラミド分子種をターゲット

としたリポドミクス解析が行われ、AD 患者ではセラミドの構成成分である炭素鎖長が 26 以上の脂肪酸が減少していることが示され、皮膚バリア機能にはセラミドを構成する脂肪酸の炭素鎖長が重要であることが明らかになった²¹。しかし AD 患者において網羅的に多価不飽和脂肪酸に由来する脂質メディエーターを解析した報告はなく、AD の病態形成におけるその役割は十分に理解されていない。

目的

本研究では、リポドミクスを用いて、AD 患者血漿中の脂質メディエーターの量的・質的特徴を明らかにし、重症度評価に有用なバイオマーカーを同定すること、AD の病態における脂質メディエーターの役割を解明することを目的とした。

方法

AD 患者 31 人、健常人 (normal control ; NC) 36 人の合計 67 人を対象とした。対象者の血漿から固相抽出法で酸化脂肪酸を抽出し、液体クロマトグラフィー質量分析計を用いて解析した。AD の重症度は、血漿 TARC 値、EASI および POEM を用いて評価した。AD 患者群と NC 群の男女比、年齢、重症度、罹患期間、血清 IgE 値、血清 LDH (lactate dehydrogenase) 値、末梢血白血球数を比較した。統計学的解析は、Mann-Whitney U test、Fisher's exact test、Spearman の順位相関係数、またバイオマーカーの探索には、二項ロジスティック解析の変数減少法 (条件付き) を用いた。p 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意と判断した。

結果

AD 患者群において、AA 代謝物では、TXB₂ (Thromboxane B₂) が NC 群と比較して有意に高値であった。一方、PGD₂、PGF_{2α}、5-oxo-ETE (5-oxo-eicosatetraenoic acid)、LXA₄、LXB₄ および 8-HETE (8-hydroxyeicosatetraenoic acid) は NC 群と比較して有意に低値であった。また、EPA と DHA の代謝物では AD 患者群において全体的に脂質メディエーターは低い傾向にあり、特に 18-HEPE (18-hydroxyeicosapentaenoic acid)、PD1 および 10-HDoHE (10-hydroxydocosaheptaenoic acid) が NC 群と比較して有意に低値であったが、RvD2 のみが NC 群よりも有意に高値であった。各脂質メディエーターの前駆物質である FFA (free fatty acid) では AD 患者群と NC 群の 2 群間で、濃度に有意差はみられなかった。

AD 患者血漿中で検出された脂質メディエーターについて、病態との関連を

検討した所、LTB₄、LTD₄、5-HETE 濃度は AD の重症度マーカーである血漿 TARC 値と有意な正の相関関係を認めた。また LXA₄ 濃度は血漿 TARC 値と、12-HEPE 濃度は EASI と有意な負の相関関係を認めた。また、LTD₄ 濃度は血清 IgE 値との間に有意な正の相関関係を認めた一方で、PGF_{2α}、LXA₄、8-HEPE および 18-HEPE 濃度と血清 IgE 値との間には有意な負の相関関係がみられた。

さらに、AD 患者群と NC 群の 2 群間で有意差を示した脂質メディエーターが、AD のバイオマーカーになりうるかについて二項ロジスティック解析を行ったところ、最終的に LXB₄ と RvD2 が有意差をもって同定された。RvD2 は、この解析において *p* value が最も低かった脂質メディエーターであったことから、AD の病態における RvD2 の役割を解析した。ヒト表皮角化細胞株

(HaCaT 細胞) および正常ヒト表皮角化細胞を用いたスクラッチテストを行った結果、RvD2 の添加により上皮細胞の増生が有意に誘導された。また AD モデルマウス実験では AD 病変局所にて RvD2 が有意に上昇していた。

考察

本研究の結果、AD 患者群は NC 群と比較して全体的に脂質メディエーターの濃度が低い傾向にあった。しかし FFA の測定結果から、AD 患者群と NC 群の血漿中 FFA に有意差はみられなかったことから、合成酵素発現レベルや脂質メディエーター産生細胞の機能抑制や炎症局所での消費の亢進などといった脂肪酸代謝の過程が関連していると考えられた。

LXA₄ に関しては、AD の血漿 TARC 値と血清 IgE 値とに有意に相関し、LXA₄ の血漿中の濃度が低い程、血清 IgE 値は高く、AD は重症であることが明らかになった。LXA₄ は、抗炎症性メディエーターとして知られ、AD の病態への関与が明らかになった ILC2 からの IL-13 産生を抑制すると報告されている²²。本研究では LXA₄ は AD 患者群において NC 群と比較して有意に低下しており、このことから AD では LXA₄ が低下しているため ILC2 からの IL-13 産生が抑制できず、2 型炎症が増強することで、AD の病態を重症化させている可能性が考えられた。さらに ILC2 は CysLTs (Cysteinyl leukotrienes) の刺激で活性化し IL-5、IL-13 および IL-4 を産生する²³。LXA₄ は CysLT1 (Cysteinyl leukotriene 1) 受容体とも親和性を持ち、CysLTs に拮抗することから²⁴、AD では LXA₄ が低下しているため ILC2 に対する刺激が CysLTs 優位となり、2 型炎症が増強することで、AD の病態を重症化させていることが考えられた。LXA₄ は AD の重症度を反映するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

また AD 患者群で有意に高値であり、二項ロジスティック解析から *p* value が最も低かった脂質メディエーターであった RvD2 の役割を解析したところ、*in vitro* の実験では、RvD2 が角化細胞の増殖を促進させることが判明した。AD モ

デルマウス実験において AD の病変局所の RvD2 濃度も上昇していたことから、RvD2 は AD の病変局所で産生が増強され、皮膚バリア機能の破綻や搔破により破壊された表皮の修復に関与している可能性が示された。

結語

AD 患者群では、脂肪酸代謝物の全体的な低下がみられており、脂肪酸代謝機能の低下が AD の病態に関与している可能性が示唆された。LXA₄ は AD の重症度を反映するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。今回の測定で RvD2 は AD 患者群において NC 群と比較して有意に高値を示し、二項ロジスティック解析にて最も高い有意差を示した。また AD モデルマウスの病変局所で上昇していることが分かり、病態との関連が示唆された。

引用文献

1. Katoh N, Ohya Y, Ikeda M, et al. Japanese guidelines for atopic dermatitis 2020. *Allergol Int* 2020;69(3):356–69.
2. Ishikawa J, Narita H, Kondo N, et al. Changes in the ceramide profile of atopic dermatitis patients. *J Invest Dermatol* 2010;130(10):2511–4.
3. Palmer CNA, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006;38(4):441–6.
4. Han H, Roan F, Ziegler SF. The atopic march: current insights into skin barrier dysfunction and epithelial cell-derived cytokines. *Immunol Rev* 2017;278(1):116–30.
5. Ito T, Wang YH, Duramad O, et al. TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand. *J Exp Med* 2005;202(9):1213–23.
6. Furue M. Regulation of filaggrin, loricrin, and involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: Pathogenic implications in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci* 2020;21(15):1–25.
7. Nakashima C, Otsuka A, Kabashima K. Interleukin-31 and interleukin-31 receptor: New therapeutic targets for atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 2018;27(4):327–31.
8. Imai Y, Yasuda K, Sakaguchi Y, et al. Skin-specific expression of IL-33 activates group 2 innate lymphoid cells and elicits atopic dermatitis-like inflammation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(34):13921–6.
9. Schmitt J, Spuls PI, Thomas KS, et al. The Harmonising Outcome Measures for Eczema (HOME) statement to assess clinical signs of atopic eczema in trials. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134(4):800–7.
10. Charman CR, Venn AJ, Williams HC. The patient-oriented eczema measure: development and initial validation of a new tool for measuring atopic eczema severity from the patients' perspective. *Arch Dermatol* 2004;140(12):1513–9.
11. Kataoka Y. Thymus and activation-regulated chemokine as a clinical biomarker in atopic dermatitis. *J Dermatol* 2014;41(3):221–9.
12. Ye Y, Yang X, Long B, et al. Association between a CCL17 genetic variant and risk of coronary artery disease in a Chinese Han population. *Circ J* 2018;82(1):224–31.
13. Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet* 2007;369(9567):1090–8.
14. Kang JX. Fat-1 transgenic mice: A new model for omega-3 research. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids* 2007;77(5–6):263–7.
15. Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B. Lipoxins: Novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;81(17

- I):5335–9.
16. Arita M. Mediator lipidomics in acute inflammation and resolution. *J Biochem* 2012;152(4):313–9.
 17. Serhan CN. Novel Pro-Resolving Lipid Mediators in Inflammation Are Leads for Resolution Physiology. *Nature* 2014;510(7503):92–101.
 18. Sawada Y, Honda T, Nakamizo S, et al. Prostaglandin E2 (PGE2)–EP2 signaling negatively regulates murine atopic dermatitis–like skin inflammation by suppressing thymic stromal lymphopoietin expression. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144(5):1265–73.
 19. Fogh K, Herlin T, Kragballe K. Eicosanoids in skin of patients with atopic dermatitis: prostaglandin E2 and leukotriene B4 are present in biologically active concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83(2 Pt 1):450–5.
 20. Hishinuma T, Suzuki N, Aiba S, et al. Increased urinary leukotriene E4 excretion in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2001;144(1):19–23.
 21. Berdyshev E, Goleva E, Bronova I, et al. Lipid abnormalities in atopic skin are driven by type 2 cytokines. *JCI insight* 2018;3(4):1–15.
 22. Barnig C, Levy BD. Innate immunity is a key factor for the resolution of inflammation in asthma. *Eur Respir Rev* 2015;24(135):141–53.
 23. Doherty TA, Khorram N, Lund S, et al. Lung type 2 innate lymphoid cells express cysteinyl leukotriene receptor 1, which regulates TH2 cytokine production. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132(1):205–13.
 24. Chiang N, Serhan CN, Dahlén SE, et al. The lipoxin receptor ALX: Potent ligand-specific and stereoselective actions in vivo. *Pharmacol. Rev.* 2006;58(3):463–87.