HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Disruption of the endopeptidase ADAM10-Notch signaling axis leads to skin dysbiosis and innate lymphoid cell-mediated hair follicle destruction

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2023-10-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 坂本, 慶子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000004

博士（医学）　坂本　慶子
論文題目
Disruption of the endopeptidase ADAM10-Notch signaling axis leads to skin dysbiosis and innate lymphoid cell-mediated hair follicle destruction
（エンドペプチダーゼ ADAM10-Notch シグナリング軸の破綻は皮膚のディスバイオーシスと自然リンパ球介在性の毛嚢破壊をきたす）

論文の内容の要旨
［はじめに］
皮膚には多くの組織在住型の免疫細胞が存在し、生理的もしくは病的な炎症を担う。皮膚在住型免疫細胞の配置や維持には、毛嚢がケモカインやサイトカインを産生することで重要な役割を果たすという概念が確立されている。しかし、この免疫細胞-毛嚢クロストークには不明な点が多い。申請者のグループは以前、表皮の自然リンパ球（ILC）がケモカイン受容体依存性に毛嚢上部に配置し、脂腺機能を制御している事を報告した。ILC 欠損マウスでは脂腺が肥大し、抗菌脂質が過剰に産生されることで、皮膚マイクロバイオームの構成に異常を呈した。すなわち、毛嚢と ILC は相互作用し、皮膚マイクロバイオームの恒常性を保つことが明らかとなった。
宿主とマイクロバイオームの共生メカニズムの破綻は病的な皮膚の炎症を引き起こすことも明らかとなってきた。申請者のグループは、マウスにおいて皮膚の主要な膜型蛋白分解酵素である A disintegrin and metalloproteinase (ADAM)17 を表皮から欠失させると、皮表の黄色ブドウ球菌が過剰に増殖し、アトピー性皮膚炎様炎症が誘導されることを報告した。ここで、皮膚におけるもう一つの主要な ADAM として、ADAM10 が知られている。ADAM10 の全身性の欠失はマウスでは胎性致死となる。また、ADAM10 は毛嚢形成に重要であり、細菌毒素の受容体としても機能することが知られている。これらの多様な機能から、ADAM10 は毛嚢での宿主―微生物の共生に重要な役割を果たしていることが示唆される。しかし、毛嚢での宿主―微生物の共生における ADAM10 の役割、その破綻と炎症性皮膚疾患との関連は不明である。
［材料ならびに方法］
ADAM10 を毛嚢の一部から誘導欠失させるマウスモデルを作成し、その表現型をフローサイトメトリー、シングルセル RNA シーケンス、微生物学的解析（培養・16S マイクロバイオーム解析）などの実験系を駆使し、解析を行った。ADAM10 の直下で機能する Notch 経路を標的としたマウスモデルを作成し、下流のメカニズムを同定し、*in vitro* の系を利用し、メカニズムを解析した。全ての動物実験は米国国立衛生研究所動物実験承認番号 A018-07-07 の下行った。
［結果］
Mx1 遺伝子が I 型インターフェロン反応性であること、*Mx1*-Cre マウスでは二重鎖 RNA アナログである poly(I:C)を投与することで Cre リコンビナーゼを作動させうることを利用し、*Mx1*-Cre x ROSA26-YFP マウスを作成した。このマウス

に poly(I:C)を腹腔内投与し、毛嚢上部が I 型インターフェロン反応性であることを確認した。さらに同部位から ADAM10 を誘導欠失させるために、*Mx1*-Cre x *Adam10*-floxed（ADAM10$^{\Delta Mx1}$）マウスを作成した。ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスは誘導後約 20 日で進行性脱毛を生じ、組織学的には炎症性毛嚢破壊を認めた。脱毛に先行して CD4^{+}T 細胞と ILC サブセットの一つである inflammatory ILC2 （iILC2）が皮膚で増加していたことより、ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスを *Rag2*$^{-/-}$マウス（T 細胞欠損）と *Il7ra*$^{-/-}$マウス（T 細胞と ILC が欠損）に交配したところ、後者のみで表現型をレスキューできた。さらに、iILC2 は S1P1 受容体と CCR6 に依存して皮膚に浸潤し、毛嚢破壊を誘導した。さらに、ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスは毛嚢幹細胞領域を喪失していた。

ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスの毛嚢には細菌要素が確認され、毛から *Corynebacterium mastitidis* が大量に培養された。マイクロバイオーム解析により、ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスの皮膚は *Corynebacterium* 属で支配されていることが確認された。あらかじめ抗生物質を投与した ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスは脱毛を生じず、炎症性細胞浸潤も減少した。

ADAM10 の下流では Notch シグナリングが働いている。*Mx1*-Cre x *Rbpj*-floxed（RBPJ$^{\Delta Mx1}$）マウスを作成して毛嚢上部での Notch シグナリングを阻害したところ、ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウス同様にディスバイオーシスと炎症性脱毛破壊を認めた。

ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスと RBPJ$^{\Delta Mx1}$ マウス皮膚の CD45 陰性細胞のシングルセル RNA 解析をおこなったところ、両者に共通して抗菌ペプチドである *Defb6*（defensin beta 6）の発現低下を認めた。Defensin beta 6 は *in vitro* で *C. mastitidis* に対して強い抗菌活性を持ち、*in vivo* で接種することで ADAM10$^{\Delta Mx1}$ マウスの脱毛を促進した。［考察］

以上の結果から、ADAM10-Notch シグナル軸の毛嚢上部での欠失は、defensin beta 6 を介した上皮の自然免疫バリア破綻を引き起こし、毛嚢内のディスバイオーシスの誘導、引き続く iILC2 による炎症性毛嚢破壊を誘導することが示された。炎症性皮膚疾患の病態形成におけるマイクロバイオームの関与は明らかとなりつつあるが、脱毛症病態におけるマイクロバイオームの関与は不明であった。本研究は、毛嚢における自然免疫バリアの破綻がディスバイオーシスと炎症性脱毛を誘導することを明らかとした。この結果は、宿主と常在微生物の均衡維持の重要性を強く示唆するものと考えられた。また、本研究のマウスモデルの表現型は幹細胞領域を失う非可逆的な脱毛であり、ヒトの瘢痕性脱毛を模倣している可能性が示唆され、瘢痕性脱毛の病態解明・治療薬開発に有用なモデルとなることが示唆された。

［結論］

皮膚で ADAM10-Notch シグナル軸を阻害すると、上皮の自然免疫機構が破綻し、毛嚢内細菌叢の増殖と iILC2 による炎症性毛嚢破壊をきたす。