

令和元年5月27日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19708

研究課題名(和文) 乾癬様皮膚炎、アトピー性皮膚炎、皮膚感染症におけるリンパの役割の解析

研究課題名(英文) Lymphatic dysfunction involvement in psoriasis like skin inflammation, atopic dermatitis, and skin infection

研究代表者

山田 大資 (Yamada, Daisuke)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90770826

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ流障害のあるマウスでは、イミキモド誘発乾癬様皮膚炎モデルで炎症の増悪、自然発癌モデルで腫瘍の増大、悪性度の上昇が見られた。しかし、イミキモドあるいは発癌物質を塗布した後の、局所における起炎症性、発がん性サイトカインのmRNAの発現には大きな差は見られなかった。そこで、局所におけるサイトカインの蛋白貯留が起きていると考え、解析を進めたところ、実際に病変局所でさまざまなサイトカインの蛋白レベルでの発現が上昇しており、その結果誘導される表皮角化細胞のSTAT3経路の亢進も確認された。以上の結果から、リンパ流の障害はサイトカインの蛋白レベルでの貯留を来し、炎症、発癌を誘導することが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リンパ浮腫が皮膚の炎症や幾つかの腫瘍の発生母地になることは知られていたが、その機序ははっきりとしていなかった。今回、研究代表者は、リンパ浮腫が局所における起炎症性、発がん性サイトカインの蛋白貯留を引き起こし、結果として、皮膚の炎症、腫瘍の発生につながることを見出した。貯留したサイトカインの分解などの治療がリンパ浮腫における長期的な皮膚炎、腫瘍の発生を予防できる可能性があり、リンパ浮腫の新規治療として、検討することができるようになったと思われる。

研究成果の概要(英文)：In mice with lymphatic dysfunction, imiquimod-induced psoriasis like inflammation was deteriorated. In addition, larger and more aggressive tumors were formed in TPA- and DMBA-induced skin tumorigenesis model in mice with lymphatic dysfunction. Inconsistent with such results, mRNA expression levels of proinflammatory and prooncogenic cytokines in lesional skin after imiquimod or DMBA administration were comparable between mice with lymphatic dysfunction and wild type mice. On the other hand, we found that protein expression levels of proinflammatory and prooncogenic cytokines in lesional skin after imiquimod or DMBA administration were increased in mice with lymphatic dysfunction. We also revealed that phosphorylation of STAT3 induced by various cytokines was upregulated in epidermal keratinocytes of mice with lymphatic dysfunction. These results suggest that lymphatic dysfunction caused cytokine protein accumulation, resulting in exacerbation of inflammation and carcinogenesis.

研究分野：リンパ浮腫

キーワード：リンパ浮腫 イミキモド誘発乾癬様皮膚炎 自然発癌 サイトカイン蛋白の貯留

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1) 乾癬、皮膚発癌におけるリンパの重要性

乾癬は厚い鱗屑を付着する境界明瞭な紅斑局面を特徴とするが、重症例では紅皮症を呈することや、発熱や関節痛を伴うこともある。患者のストレスは非常に大きく、乾癬患者の QOL は身体的、精神的両方の点で、がん患者や心筋梗塞患者よりも低下していることが明らかになっている。発疹は肘、膝など外部からの刺激が強い部分に出来やすいが、下肢にも生じることが多い。また、紫外線や生物学的製剤を用いた治療を行った後、下肢だけに発疹が残存すること、すなわち下肢の発疹だけ治療に抵抗を示すことが臨床的によく経験される。下肢の発疹が難治である正確な機序は明らかではないが、リンパ、血液のうっ滞や循環障害などを来しやすい解剖学的な特徴がその理由の一つと考えられる。乾癬におけるリンパの役割を理解することは、発疹が下肢に好発し、また下肢の発疹が難治である機序の解明に重要であり、乾癬の病態解明、新たな治療の開発に有用である。

また、下肢のリンパのうっ滞が幾つかの悪性腫瘍の発生源となることも知られており、その機序を解明することが、そのようなリンパのうっ滞を母地とした腫瘍の予防につながる可能性が考えられ、有用と思われる。

2) リンパ流に障害のあるマウスモデル

カポジ肉腫ウイルスサイクリン遺伝子導入マウスは、カポジ肉腫ウイルス遺伝子の一つである v-cyclin を、リンパ管内皮細胞のマーカーである VEGF 受容体 3 のプロモータを用いてリンパ管特異的に発現させている。このマウスはリンパ流の障害によって、リンパ浮腫や胸水の貯留を来す。我々の教室ではこのマウスの解析を行い、接触皮膚炎、創傷治癒、腫瘍免疫におけるリンパの役割を検討してきた。リンパ流に障害があるマウスでは、接触抗原塗布後の所属リンパ節に抗原を持った樹状細胞をほとんど認めず、感作リンパ球の誘導が弱いにも関わらず、激しい皮膚炎を生じ、組織の浮腫、細胞浸潤は高度であった。実際にリンパ浮腫の患者では、正常人よりも強い接触皮膚炎をしばしば認めるため、これらの知見は、リンパ浮腫の患者の生体における反応をよく反映していると考えられる。また、リンパ流に障害があるマウスでは創傷治癒が遅延すること、野生型マウスと比べて肥満細胞が増加し、マクロファージが減少していること、IL-10 の発現増加が創傷治癒遅延に結びついていることなどを見出した。リンパのうっ滞しやすい下腿では創傷治癒が遅れることが多く、IL-10 をターゲットにした新たな治療戦略が考えられた。さらにリンパ流の障害によって腫瘍抗原がリンパ節で提示されないと、CD8 陽性 T 細胞による腫瘍免疫反応が起きないため、皮膚における腫瘍形成が促進することが分かった。生体における腫瘍免疫のメカニズムにおけるリンパ流の役割が判明し、発癌予防のためのリンパ浮腫治療の重要性や担癌患者に対する免疫療法の際のリンパ流の改善など新知見が得られた。このようにカポジ肉腫ウイルスサイクリン遺伝子導入マウスは、リンパ流に障害のあるマウスモデルとして極めて重要であり、様々な皮膚疾患におけるリンパの役割を研究するために最適である。

2. 研究の目的

末梢組織からリンパ節へのリンパ管を介した物質の流れは、炎症性疾患やリンパ浮腫の病態に深く関わっており、また担癌状態における腫瘍抗原の提示や転移の経路の一つとして極めて重要である。これまでリンパ流の障害が乾癬や皮膚における発癌などにどのような影響を与えるのか、マウスを用いた研究はほとんどなされていない。カポジ肉腫ウイルス遺伝子導入マウスはリンパ管特異的に発現したマウス(カポジ肉腫ウイルスサイクリン遺伝子導入マウス)はリンパ管が存在するもののリンパ流が障害されており、リンパ浮腫や胸水の貯留を来す。このマウスを用いて、乾癬様皮膚炎、皮膚における化学物質による自然発癌におけるリンパの役割について解析する。

3. 研究の方法

カポジ肉腫ウイルスサイクリン遺伝子導入マウス(リンパ流に障害のあるマウス)をヘテロで繁殖し、同腹の野生型マウスを対照群としてイミキモド誘発乾癬様皮膚炎モデル、TPA、DMBA による 2 段階皮膚発癌モデルの実験に用いる。乾癬様皮膚炎は、剃毛したマウスの背部と耳にイミキモドクリームを連日塗布して皮膚炎を誘導する。乾癬患者に対して臨床的に使用されている PASI スコアと類似の評価法で皮膚炎を解析するほか、組織学的検討、サイトカインの mRNA、蛋白発現の検討を行った。2 段階皮膚発癌モデルでは、背部の皮膚を剃毛し、DMBA 100 µg を 200 µl のアセトンに溶解したものを単回塗布する。1 週間後より同部位に週 2 回の頻度で、TPA 10 µg を 200 µl のアセトンに溶解したものを塗布し、最大 30 週間継続する。新生する腫瘍の数、大きさを肉眼的に観察した。また、組織学的検討、サイトカインの mRNA、蛋白発現の検討を行った。

4. 研究成果

リンパ流障害のあるマウスでは、イミキモド誘発乾癬様皮膚炎モデルの増悪が見られた。しかし、組織学的には、表皮の肥厚は見られたものの、浸潤する炎症細胞の数には差が見られず、病変局所における起炎症性サイトカインの mRNA の発現レベルには差が見られなかった。そこで、蛋白の貯留が起きた結果、表皮肥厚、皮膚炎症の増悪が見られていると考え、起炎症性サイト

カインによる表皮肥厚を来すシグナルである STAT3 経路に関して検討を行ったところ、リンパ流障害のあるマウスでは、表皮角化細胞における STAT3 のリン酸化の亢進が見られた。このように、蛋白貯留を裏付ける結果が得られたため、実際に起炎症性サイトカインの蛋白発現を検討したところ、予想通り、リンパ流障害のあるマウスでは、起炎症性サイトカインの蛋白発現が上昇していることが分かった。

リンパ流障害のあるマウスでは、自然発癌モデルにおいて、腫瘍の増大、悪性度の上昇が見られた。このモデルでは、組織学的に、炎症細胞の浸潤の増悪、表皮肥厚の双方が見られた。一方で、TPA を単塗りした直後の発癌性サイトカインの mRNA の発現には、野生型マウスと大きな差はないというイミキモド誘発乾癬様皮膚炎モデルと同様の結果が得られた。このモデルでも、TPA 外用による発癌性サイトカインの蛋白貯留が起きている可能性を考え、その発現を検討したところ、やはりリンパ流障害のあるマウスでは、外用局所における発癌性サイトカインの蛋白発現の亢進が見られた。

以上の結果から、リンパ流の障害はサイトカインの蛋白レベルでの貯留を来し、炎症、発癌を誘導することが考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

1. Osteogenic melanoma of the right fifth toe. Hayashi Y, Masui Y, Miyagawa T, Yamada D, Miyagaki T, Ikegami M, Kobayashi H, Shinozaki-Ushiku A, Takekoshi T, Sato S. *J Dermatol*. 2019 Feb 27. Epub ahead of print.
2. A Subcutaneous Tumour on the Posterior Neck: A Quiz. Omatsu J, Saigusa R, Miyagawa T, Numajiri H, Akamata K, Masui Y, Yamada D, Sato S. *Acta Derm Venereol*. 2018 Aug 29;98(8):817-819.
3. Trousseau syndrome associated with cutaneous squamous cell carcinoma. Kurniadi I, Yamada D, Wirya AY, Norimatsu Y, Kuzumi A, Ogaki J, Takahashi N, Sato S. *J Dermatol*. 2018 Aug;45(8):e228-e229.
4. Dermatofibrosarcoma Protuberans Presenting as a Large Atrophic Plaque on the Chest. Saigusa R, Miyagawa T, Toyama S, Omatsu J, Miyagaki T, Masui Y, Yamada D, Sato S. *Acta Derm Venereol*. 2018 Jan 12;98(1):155-156.
5. Lymphangiosarcoma of the hip arising in a congenital non-irradiated lymphangioma. Miyagawa T, Kadono T, Saigusa R, Yamada D, Masui Y, Fujita H, Asano Y, Sato S. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2017 Dec;15(12):1235-1237.
6. Nivolumab-induced vitiligo successfully treated with narrowband UVB phototherapy. Miyagawa T, Kadono T, Masui Y, Yamada D, Saigusa R, Numajiri H, Omatsu J, Asano Y, Sato S. *Eur J Dermatol*. 2017 Dec 1;27(6):656-658.
7. Multiple-opposing rotation flaps for the scalp defect including hair whorl. Miyagawa T, Kadono T, Saigusa R, Numajiri H, Omatsu J, Funamizu K, Yamada D, Masui Y, Asano Y, Sato S. *J Dermatol*. 2017 Nov;44(11):e302-e303.
8. Spontaneous regression of melanoma-letting us reaffirm the significance of immunotherapy. Miyagawa T, Kadono T, Yamada D, Sato S. *Jpn J Clin Oncol*. 2017 May 1;47(5):469-470.
9. Pazopanib induced a partial response in a patient with metastatic fibrosarcomatous dermatofibrosarcoma protuberans without genetic translocations resistant to mesna, doxorubicin, ifosfamide and dacarbazine chemotherapy and gemcitabine-docetaxel chemotherapy. Miyagawa T, Kadono T, Kimura T, Saigusa R, Yoshizaki A, Miyagaki T, Yamada D, Masui Y, Fujita H, Sato S. *J Dermatol*. 2017 Mar;44(3):e21-e22.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。