

平成22年3月2日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18591259
 研究課題名（和文） 尋常性乾癬の病態におけるケミカルメディエーターの役割とその治療への応用
 研究課題名（英文） The roles of chemical mediators in the pathogenesis of psoriasis vulgaris and their therapeutical application
 研究代表者
 神田 奈緒子（KANDA NAOKO）
 帝京大学・医学部・准教授
 研究者番号：50260493

研究成果の概要（和文）：尋常性乾癬は、自己免疫性炎症性皮膚疾患であり、種々のケミカルメディエーターが本疾患の病態を調節している可能性がある。Prolactin は表皮ケラチノサイトにおいて、Th1, Tc1 細胞の遊走を促すケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 の産生と Th17 細胞の遊走を促すケモカイン CCL20 の産生を促した。Leukotriene B₄ はケラチノサイトにおいて、メモリーT 細胞の遊走を促すケモカイン CCL27 の産生を促した。Prolactin, Leukotriene B₄ は、これらのケモカインを介して尋常性乾癬病変部への T 細胞の浸潤を促すと考えられる。Leptin はケラチノサイトによる抗菌ペプチド human β -defensin-2 の産生を促した。Histamine はケラチノサイトによる human β -defensin-2, human β -defensin-3 の産生を促した。Leptin, histamine は抗菌ペプチドを介して皮膚の抗菌活性を増強するとともに、表皮細胞の増殖、血管新生, Th17 細胞の浸潤を促し、尋常性乾癬の進展を促すと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Psoriasis vulgaris is an autoimmune inflammatory dermatosis. Chemical mediators may be involved in the pathogenesis of this disease. Prolactin acts on keratinocytes and induces their production of CXCL9/10/11 or CCL20 chemoattracting Th1/Tc1 cells or Th17 cells, respectively. Leukotriene B₄ acts on keratinocytes and induces their production of CCL27 chemoattracting skin-homing memory T cells. These mediators may induce the infiltration of T cells into psoriatic skin lesions via these chemokines. Leptin induces the production of antimicrobial peptide human β -defensin-2, and histamine induces human β -defensin-2 and human β -defensin-3 production in keratinocytes. These mediators may enhance the proliferation of keratinocytes, angiogenesis, and infiltration of Th17 cells in psoriatic skin lesions in addition to the enhancement of cutaneous antimicrobial activities.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	900,000	270,000	1,170,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	750,000	4,150,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：尋常性乾癬, ケミカルメディエーター, ケラチノサイト

1. 研究開始当初の背景

尋常性乾癬は、皮膚の自己免疫性炎症性角化症である。本疾患の発症には、表皮ケラチノサイトの過剰増殖、分化異常、病変部の皮膚に浸潤するT細胞の Th1, Th17 サイトカインの過剰産生、マクロファージ、樹状細胞の炎症性サイトカインの過剰産生、表皮ケラチノサイトのケモカイン、サイトカイン、サイトケラチンの産生異常、好中球の表皮内浸潤や真皮の血管、知覚神経の過剰増殖等、種々の異常な生体反応が関与している。Histamine, prostaglandin E2, leukotriene B4, substance P 等のケミカルメディエーターは、尋常性乾癬の皮膚病変で検出されており、その病態を調節している可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、尋常性乾癬の病態に関わる種々の生体反応を、各種ケミカルメディエーターが促進あるいは抑制するかを検討し、またその作用機序を解明する。さらに、これらケミカルメディエーターの receptor antagonist あるいは agonist が尋常性乾癬の治療に有用であるか否かを検討する。

3. 研究の方法

- (1)ケラチノサイト、炎症細胞における各種ケミカルメディエーターのレセプター発現を RT-PCR, flow cytometry により検討する。
- (2)ケラチノサイトの炎症性・抗炎症性サイトカイン、ケモカイン、血管・神経増殖因子産生に対するケミカルメディエーターの作用を ELISA, RT-PCR で検討する。各種ケミカルメディエーターは、細胞内シグナル伝達系 (phospholipase C/protein kinase C, cAMP/protein kinase A, ras/raf1/MEK/ERK, p38 mitogen-activated protein kinase, PI-3 kinase/Akt など) を活性化あるいは不活化することにより、成長因子の遺伝子転写に関わる転写因子 (NF- κ B, AP-1 など) の活性を調節する結果、遺伝子転写を調節することが予想される。標的遺伝子の転写調節に関わる転写因子を同定し、それら転写因子の DNA 結合能に対するケミカルメディエーターの作用をゲルシフト分析法により検討し、転写因子の転写活性に対する作用はルシフェラーゼアッセイで検討する。さらにケミカルメディエーターによる遺伝子転写調節に関与するシグナル伝達系を同定し、標的となるシグナル伝達系の活性に対するケミカルメディエーターの作用を in vitro kinase assay などで検討する。
- (3)ケラチノサイトの増殖、アポトーシスに対するケミカルメディエーターの作用を 3 H-チミジンあるいは BrdU の取り込み, flow cytometry により検討する。
- (4)ケラチノサイトの自己成長因子産生に

対するケミカルメディエーターの作用を(2)と同様の手法で検討する

4. 研究成果

- (1)ヒトケラチノサイトはケミカルケミカルメディエーターのレセプターとして long form prolactin receptor, leukotriene B₄ receptor (BLT1, BLT2), leptin receptor (Ob-Rb), histamine receptor (H1R, H2R) を発現していることが判明した。
- (2)Prolactin は脳下垂体より分泌されるが、皮膚の汗腺、表皮細胞にも発現されている。Prolactin はケラチノサイトにおいて、IFN- γ と協調し、JAK2/STAT1 および MEK/ERK シグナルを誘導して 転写因子 NF- κ B, STAT1, IRF-1 を活性化し、Th1, Tc1 細胞の遊走を促すケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 の産生を促進した。Prolactin は単独あるいは IL-17 と協調してケラチノサイトの CCL20 産生を促した。Prolactin は AP-1 の転写活性, AP-1 component である c-Fos, c-Jun の発現を促し、IL-17 と協調して MEK/ERK, JNK シグナル経路を誘導して、NF- κ B, AP-1 を活性化し、Th17 細胞の遊走を促す CCL20 の産生を促進した。Prolactin はこれらのケモカイン産生を介して尋常性乾癬病変部への Th1, Tc1, Th17 細胞の浸潤を誘導すると考えられる。
- (3)脂質メディエーター leukotriene B₄ は好中球、肥満細胞、マクロファージなどから放出される。Leukotriene B₄ はケラチノサイトにおいて、シグナル伝達経路 BLT1 receptor/G_{i/o}/PI3K/ERK を誘導することにより、TNF- α と協調して NF- κ B を活性化し、表皮向性メモリーT細胞の遊走を促す CCL27 の産生を促進した。Leukotriene B₄ は CCL27 産生を介して乾癬病変部への memory T 細胞の浸潤を誘導すると考えられる。
- (4)Leptin は脂肪組織から放出されるが、皮膚では表皮細胞、血管内皮細胞、汗腺などでも発現されている。Leptin はケラチノサイトにおいて、JAK2, p38 MAPK を活性化することにより、IL-1 β と協調して STAT1, STAT3 を活性化し、抗菌ペプチド human β -defensin-2 の産生を促進した。Leptin は皮膚において、human β -defensin-2 産生を介して抗菌活性を増強するのみならず、表皮細胞の増殖、血管新生、Th17 細胞の浸潤を促進し、尋常性乾癬の進展を促すと考えられる。
- (5)Histamine はケラチノサイトの H1 receptor を刺激し、TNF- α , IFN- γ と協調して AP-1, NF- κ B, STAT1 を活性化し、human β -defensin-2 の産生を増強する。また histamine はケラチノサイトの H1 receptor を刺激し、AP-1, STAT3 を活性化し、human β -defensin-3 の産生を増強する。Histamine は皮膚において、human β -defensin-2, human β -defensin-3 産生を介して抗菌活性を増強

するのみならず、表皮細胞の増殖、血管新生、Th17細胞の浸潤を促進し、尋常性乾癬の進展を促すと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Kanda, N., Shibata, S., Tada, Y., Nashiro, K., Tamaki, K., Watanabe, S., Prolactin enhances basal and IL-17-induced CCL20 production by human keratinocytes. *Eur J Immunol* 39: 996-1006, 2009 査読有
- ② Ishikawa, T., Kanda, N., Hau, C. S., Tada, Y., Watanabe, S., Histamine induces human β -defensin-3 production in human keratinocytes. *J Dermatol Sci* 56(2):121-127, 2009 査読有.
- ③ 神田奈緒子: 表皮細胞と免疫のクロストーク 炎症と免疫 17(3): 44(290)-49(295), 2009 査読無
- ④ Kanda, N., Watanabe, S. Leptin enhances human β -defensin-2 production in human keratinocytes. *Endocrinology* 149(10):5189-5198, 2008 査読有
- ⑤ 神田奈緒子: ヒスタミンによる表皮からのサイトカイン・ケモカイン産生誘導 臨床免疫・アレルギー科 47(3):372-377, 2007 査読無
- ⑥ Kanda, N., Watanabe, S. Histamine enhances the production of human β -defensin-2 in human keratinocytes. *Am J Physiol-Cell Physiol* 293(6):C1916-C1923, 2007 査読有
- ⑦ Kanda, N., Watanabe, S. Leukotriene B₄ enhances tumor necrosis factor- α -induced CCL27 production in human keratinocytes. *Clin Exp Allergy* 37(7):1074-1082, 2007 査読有
- ⑧ Kanda, N., Watanabe, S. Prolactin Enhances Interferon- γ -Induced Production of CXCL9, CXCL10, and CXCL11 in Human Keratinocytes. *Endocrinology* 148(5):2317-2325, 2007 査読有

[学会発表] (計 9 件)

- ① 神田奈緒子: ヒスタミンはケラチノサイト上の human β -defensin-3 産生を促進する. 第 11 回東京皮膚フォーラム、東京、2010. 2. 27
- ② 神田奈緒子: プロラクチンと乾癬 (教育講演) 第 73 回日本皮膚科学会東京支部学術大会、東京、2010. 2. 21
- ③ 神田奈緒子, 渡辺晋一: ヒスタミンはケラチノサイトの human β -defensin-2 産生を促進する. 第 59 回日本アレルギー学会総会、秋田、2009. 10 月 29 日
- ④ 納 さつき, 多田弥生, 神田奈緒子, 渡辺晋一: シンポジウム 1 乾癬患者血清における T helper cell type 17 誘導性サイトカインの検討. 第 24 回日本乾癬学会、東京、2009. 9 月 18 日
- ⑤ Naoko Kanda and Shinichi Watanabe: Prolactin enhances basal and IL-17-induced CCL20 production by human keratinocytes The 69th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. May 6-9, 2009. Montreal, Canada.
- ⑥ 神田奈緒子: 乾癬の病態におけるプロラクチンの役割, 第 4 回箱根カンファレンス, 2008 年 8 月 24 日 木更津
- ⑦ 神田奈緒子: 乾癬とメタボリックシンドローム 第 7 回皮膚科セミナー 2008 年 7 月 17 日 東京
- ⑧ Naoko Kanda, Teruo Shimizu, Yayoi Tada, Shinichi Watanabe. Prolactin enhances interferon- γ -induced production of CXCL9, CXCL10, and CXCL11 in human keratinocytes. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20 日、東京
- ⑨ Kanda N, Shimizu T, Tada Y, Watanabe S: Leukotriene B₄ enhances tumor necrosis factor- α -induced CCL27 production in human keratinocytes. The 68th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. May 9-12, 2007. Los Angeles, USA.

[図書] (計 1 件)

- ① 神田奈緒子: 皮膚とホルモン, 月経, 妊娠, 閉経, 美容皮膚科学 改訂 2 版 p111-119 南山堂, 2009 5 月

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神田 奈緒子 (KANDA NAOKO)
帝京大学・医学部・准教授
研究者番号：50260493

(2) 研究分担者

渡辺 晋一 (WATANABE SHINICHI)
帝京大学・医学部・教授
研究者番号：90114719

大西 譽光 (ONISHI TAKAMITSU)
帝京大学・医学部・准教授
研究者番号：80233211

多田 弥生 (TADA YAYOI)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：1260161923
(H19→H20：連携研究者)

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：