

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18790798
 研究課題名（和文） 選択的波長を利用した光線療法の開発とその作用機序の解析
 研究課題名（英文） Development of a phototherapy using a selective wavelength and the underlying mechanisms
 研究代表者
 苅谷 清徳（KARIYA KIYONORI）
 名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：40295605

研究成果の概要：

従来のPUVA療法やUVB (Broad-band UVB) とは違い、選択的な波長を用いることで、安全性と有効性を高め難治性皮膚疾患に応用することが大きな目標である。紫外線領域のみならず可視光線領域を含め、波長ごとの光生物学的作用を検討する必要がある。これまで、UVA1によって生じる病因となるT細胞アポトーシスの検討を行ってきた。UVA1療法で皮膚の真皮に浸潤する活性化T細胞（アトピー性皮膚炎）、すなわち病因となる細胞が、アポトーシスを起こして除かれ病変が良くなることをこれまでに明らかにしている。また、悪性T細胞は、正常T細胞に比べ、明らかに UVA1に対して感受性が高くアポトーシスを起こしやすいことを明らかにしている。これはUVA1照射によって選択的に悪性T細胞にアポトーシスを起こすことを示唆した。UVAの領域におけるアポトーシスを波長ごとに詳細に解析した。さらに、制御性T細胞の誘導について、UVA1光源を用い検討を行った。UVAの領域におけるアポトーシスは、短い波長が最も強く誘導される以外、360-380nm付近で、第2のピークがあることが明らかとなった。また、制御性T細胞に関しては、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T細胞は明らかに誘導されるものの、免疫寛容は誘導されず、照射量や繰り返し照射、さらには照射のタイミングなどをさらに検討して、最終的な結論を導き出したい。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,400,000	0	1,400,000
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	210,000	3,610,000

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：UVA1, Narrow-band UVB、アポトーシス、アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

UVA1 では T 細胞アトピー性皮膚炎において、真皮に浸潤した CD4 陽性 T 細胞にアポトーシスを起こすことにより、浸潤 T 細胞が消失し治癒することが明らかにされ、UVA1 療法は現在までに難治性皮膚疾患であるアトピー性皮膚炎、色素性蕁麻疹、限局性強皮症、乾癬に有効であることが明らかとなっている。長波長紫外線 (UVA) のなかでも、長波長側 340-400 nm (UVA1) を選択的に治療として用いる。UVA1 は、波長が長く真皮中層から深層までとどき、上記のような疾患に有効であると考えられる。UVA1 療法の皮膚 T 細胞性リンパ腫に対する治療が、PUVA 療法と比較検討のため、国際多施設検討 (名古屋, デュッセルドルフ, ウィーン, ミュンスター, ブレッシア) が始まった。現在、日本国内だけでなく世界でも、UVA1 療法とその機序の解析では当教室はもっとも最先端に位置していると思われる。

また、以前から UVB は皮膚科疾患に用いられてきたが、UVB 領域でも有効な波長として選択的 Narrow-band UVB (311-313nm) が、乾癬、アトピー性皮膚炎、白斑など外用ではコントロールの難しい疾患に応用されてきた。当教室では、本邦で最も早くから Narrow-band UVB を手がけ、日本人向けのプロトコルの開発、照射機器の開発を進めてきた。

2. 研究の目的

選択的な波長を用いることで、安全性と有効性を高め難治性皮膚疾患に応用することが大きな目標である。それには、紫外線領域のみならず可視光線領域を含め、波長ごとの光生物学的作用を検討する必要がある。今回の申請の対象となる光源は、UVA1、Narrow-band UVB で、いずれも選択的波長である。UVA1 療法で皮膚の真皮に浸潤する活性化 T 細胞 (アトピー性皮膚炎)、すなわち病因となる細胞が、アポトーシスを起こして除かれ病変が良くなることをこれまでに明らかにしている。また、悪性 T 細胞は、正常 T 細胞に比べ、明らかに UVA1 に対して感受性が高くアポトーシスを起こしやすいうことを明らかにしている。これは UVA1 照射によって選択的に悪性 T

細胞にアポトーシスを起こすことを示唆した。この選択性が起こる詳細なメカニズム解析を進める予定である。アポトーシスにおいて同様の検討を narrow-band UVB でも進める予定である。

また、光線療法の奏効機序として、上記の病因となるアポトーシスの誘導だけでなく、制御性 T 細胞の誘導が考えられている。外用療法に比べ、光線療法では長期間の寛解が得られることが経験的に知られている。この長期の寛解が以前から免疫抑制としてとらえられていた。実際、UVB 照射によって、マウスレベルであるが、制御性 T 細胞の誘導が明らかとなった。制御性 T 細胞の誘導に関しても、UVA1 光源を用い検討する予定である。

アポトーシスの誘導、制御性 T 細胞の誘導、サイトカインやケモカインなどの液性因子の差異を明らかにすることによって、波長ごとに有用な疾患が明らかとなるとともにプロトコルや機器の開発につながるものと考えられる。選択的光線療法は、従来の UVB や PUVA に比べて、DNA 障害や発癌性を少なく安全性を高く、また最適な照射方法をこれらの結果から明らかにし有効性を高くする方法になると考えられる。

3. 研究の方法

(アポトーシス解析)

(1) UVA1 による T 細胞アポトーシスの感受性解析

UVA1 によるアポトーシスの感受性を規定する因子を明らかにする予定である。

(2) Narrow-band UVB による T 細胞アポトーシスの解析

(制御性 T 細胞の解析)

アトピー性皮膚炎や乾癬などの難治性皮膚疾患に対して光線療法が用いられ、有効性が得られている。汎用されているステロイドの外用剤に比べ、治療後の皮疹がない期間 (寛解期間) が光線療法では長いことが経験的に知られている。この事実は、紫外線治療の機序として、制御性 T 細胞の誘導の可能性が示唆される。実際マウスの実験系では、紫

外線照射によって抗原（ハプテン）特異的な免疫寛容が誘導されることが明らかとなっており、現在その機序の詳細解明が進んでいる。

本申請においては、制御性T細胞がUVA1で誘導されるか、また誘導される場合誘導される機序に関して解析を行う

(1) UVA1照射によって、UVBと同様に免疫寛容が誘導されるか検討を行う。

(2) 次に感作された、または反応が抑制されたマウスから所属リンパ節を採取し、リンパ球を経静脈的にナイーブマウスに移入した2時間後に感作し、その7日後に惹起し、接触過敏反応を測定する。

(3) マウスをあらかじめ感作しておき、まずは5日後に接触過敏反応が惹起できていることを確認する。その13日後に紫外線を照射、その24時間後に再び感作した上で、7日後に惹起反応を測定する。2、3の実験で惹起反応が抑制された場合は、免疫寛容が誘導されたと考えられる。

(4) 非処理、感作、または免疫寛容となったマウスからリンパ節を取りだし、これらの細胞を染色し、CD4⁺CD25⁺制御性T細胞の割合を各グループでFACSを用いて解析する。

(5) CD4⁺CD25⁺制御性T細胞の紫外線照射による免疫寛容への関与を確認するため、照射群と非照射群でDNFBで感作したマウスに、CD25(IL-2受容体α鎖)を特異的に認識し、CD4⁺CD25⁺制御性T細胞の中和抗体として用いられるPC61モノクローナル抗体を腹腔内に投与し、接触過敏反応を評価する。PC61により接触過敏反応の抑制が解除されれば、制御性T細胞が紫外線照射による免疫寛容に関与している証拠となる。

(6) また、より直接的にCD4⁺CD25⁺制御性T細胞の接触過敏反応抑制効果を見るため、非処理、感作、または免疫寛容となったマウスからリンパ節を採取し、それらをMagnetic beadsを用いてCD4⁺CD25⁺T細胞とCD4⁺CD25⁻T細胞に分離し、それぞれをあらかじめDNFBで感作されたマウスに経静脈的に移入する。この実験によりどの分画のT細胞が紫外線照射による免疫寛容に関与しているかを検討する。

4. 研究成果

UVA の領域におけるアポトーシスを波長ごとに詳細に解析した。さらに、制御性 T 細胞の誘導について、UVA1 光源を用い検討を行った。UVA の領域におけるアポトーシスは、短い波長が最も強く誘導される以外、360-380nm 付近で、第 2 のピークがあることが明らかとなった。また、制御性 T 細胞に関しては、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T 細胞は明らかに誘導されるものの、免疫寛容は誘導されなかった。

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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

① 荻谷清徳、他 UVA1 照射の接触過敏反応・遅延型過敏反応への影響、紫外線研究会 (UVABCclub)、平成 21 年 2 月 28 日、名古屋

② 荻谷清徳、他菌状息肉症の腫瘍期に対する PUVA バス療法、日本皮膚科学会中部支部総会、平成 20 年 10 月 13 日、名古屋

[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

苅谷 清徳 (KARIYA KIYONORI)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：40295605

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし