

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08272

研究課題名(和文) CD147/basigin のTh 細胞分化と乾癬病態形成に関する包括的研究

研究課題名(英文) Comprehensive studies on the contribution of CD147/basigin to Th cell differentiation and pathogenesis of psoriasis

研究代表者

金蔵 拓郎 (Kanekura, Takuro)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：70177509

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト乾癬患者の血清と皮膚でCD147の発現が有意に亢進していた。In vitroでマウスCD4+T細胞のCD147をノックダウンするTh17細胞への分化能を失った。次に乾癬様皮疹のマウスモデルを用いてin vivoで検討した。CD147ノックアウトマウスでは野生型と比較して、病変部に浸潤するTh17細胞が有意に少なく、皮膚炎の症状が軽度であった。骨髓系血液細胞におけるCD147発現を欠損した骨髓キメラマウスでも皮膚病変におけるTh17細胞数の減少、皮膚炎症状の軽減がみられ、Th細胞が重要であることが確認された。以上の結果は、CD147が乾癬の病態形成に重要な役割を果たしていることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CD147/basiginは申請者ら自身がクローニングした分子であり、CD147/basiginとT細胞の分化機構の観点から乾癬の病態を包括的に解明したもので学術的に極めて先駆的かつ独創的なものである。近年乾癬治療に用いられる生物学的製剤はTh17細胞が産生するIL-17やTh17を活性化するIL-23をターゲットとしているのに対して、Th17細胞への分化を制御するより根本的な治療の開発につながる成果であり社会的意義が大きい。またTh17細胞関連疾患には乾癬以外にも多くの疾患が含まれるので本研究の意義は皮膚科領域にとどまらず学際的で重要性の高いものである。

研究成果の概要(英文)：Th17 plays an important role in psoriasis. The differentiation of naive CD4+ T-cells into Th17 cells depends on glycolysis as an energy source. CD147/Basigin regulates glycolysis in association with monocarboxylate transporters (MCT)-1 and -4 in cancer- and T-cells. We examined whether CD147/Basigin is involved in the pathogenesis of psoriasis using samples from humans and psoriasis-model mice. The serum level of CD147 was increased in psoriasis patients and the expression of CD147 and MCT-1 was elevated on their dermal CD4+ ROR $\gamma$ t+ T cells. In vitro, the potential of naive CD4+ T cells to differentiate into Th17 cells was abrogated in CD147 $^{-/-}$  T-cells. Imiquimod (IMQ)-induced psoriatic dermatitis was significantly milder in CD147 $^{-/-}$  mice and bone marrow chimeric mice lacking CD147 in hematopoietic cells of myeloid lineage. These findings demonstrate that CD147 is essential for the development of psoriasis via the induction of Th17 cell differentiation.

研究分野：難治性皮膚疾患、特に好中球性皮膚疾患と強皮症の病態に関する分子細胞生物学的研究と治療法の開発。

キーワード：CD147/Basigin 乾癬 解糖系 Th17細胞 MCT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

CD147/basigin は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する多機能性の分子で、解糖系を介して癌細胞の増殖・浸潤に関与している。一方 T リンパ球の活性化も解糖系を介して制御されており、CD147/basigin が Th17 細胞の分化を制御していることが報告された。

Th17 細胞は SLE などの自己免疫疾患、自己炎症性疾患、癌など多くの疾患の病態に関わっている。特に皮膚科領域では乾癬の病態形成において中心的な役割を果たしていることが解明されている。しかし乾癬における Th17 細胞への分化のメカニズムは不明な点が少ない。

上記の背景を踏まえて申請者らは CD147/basigin を介する Th 細胞の分化制御機構と乾癬病態形成を解明する目的で本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

CD147/basigin による Th 細胞特に Th17 への分化制御機構と乾癬の病態形成を包括的に解明する目的で本研究を計画した。

CD147/Basigin はモノカルボン酸トランスポーター (MCT) の細胞膜発現をシャペロンとしてサポートすることで癌細胞の解糖系を制御している。一方 T リンパ球の分化と活性化も解糖系に依存している。乾癬の病態形成において Th17 細胞が中心的な役割を果たしていることから、CD147/Basigin が Th17 細胞分化を介して乾癬病態に関与している可能性を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) CD147/basigin がヒト乾癬患者の病態と関連しているかを検討する。

乾癬患者血清中の CD147/basigin 発現量を ELISA 法で測定する。

患者の末梢血 Th 細胞上の CD147/basigin の発現をフローサイトメトリー (FACS) で測定する。 , 　いずれも健常人コントロールをおく。

(2) CD147/basigin の解糖系を介する T 細胞の分化・活性化に対する関与を *in vitro* の系で検討する。

CD147/basigin が T 細胞の MCT1/4 発現を制御しているか。

野生型マウス由来の T 細胞 (T-wt) と CD147/basigin ノックアウトマウス由来の T 細胞 (T-ko) を用いて MCT1, MCT4 の細胞膜上の発現を免疫蛍光顕微鏡で観察する。

CD147/basigin が解糖系を介する Th 細胞の活性化を制御しているか。

Th-wt, Th-ko を PMA + ionomycin あるいは固層化した抗 CD3/抗 TCR 抗体で刺激し、Th 細胞の増殖を MTT アッセイで、細胞分裂を CFSE フローサイトメトリーで観察する。

(3) 野生型マウスと CD147/basigin ノックアウトマウスを用いて実験的乾癬モデルを作製し、両者の病態を臨床病理学的に比較し、CD147/basigin が病態形成に関わっているか、特に Th 細胞の活性化と分化を制御しているか検討する。

乾癬モデルの作製

野生型マウスと CD147/basigin ノックアウトマウスの背部を剃毛し、62.5g の 5% イミキモド

クリームを連日塗布し乾癬様の皮疹を誘導する。この病変は乾癬の動物モデルとして受容されている。

野生型マウスと CD147/basigin ノックアウトマウスの実験的乾癬モデルの症状を臨床病理学的に比較する。

(4) 骨髄系血液細胞において CD147/basigin の発現を欠失した骨髄キメラマウスを作成し、野生型マウスとの間で実験的乾癬モデルの症状を臨床病理学的に比較する。

(5) 乾癬モデルマウスにおいて Th17 細胞への分化に関与しているか。

野生型と変異型のモデルにおいて末梢血 Th 細胞における Th17 細胞分化に関わる分子 ROR  $\gamma$  t の発現を観察し比較検討する。

以上の *in vitro*, *in vivo* の実験系の結果を総合し、CD147/basigin の Th 細胞の活性化と乾癬病態形成への関与を明らかにする。

#### 4 . 研究成果

ヒト乾癬患者の血清と皮膚で CD147 の発現が有意に亢進していた。 *In vitro* でマウス CD4<sup>+</sup>T 細胞の CD147 をノックダウンすると MCT の膜発現が消失し Th17 細胞への分化能を失った。次にマウスの皮膚にイミキモド(IMQ)を塗布すると乾癬様の皮膚炎を生じる実験系を用いて *in vivo* で検討した。CD147 ノックアウトマウスでは野生型と比較して、病変部に浸潤するリンパ球上の MCT の発現が低下し Th17 細胞が有意に少なく、皮膚炎の症状が軽度であった。また脾臓における Th17 細胞数が有意に低下していた。T 細胞が重要であることを確認するため免疫細胞における CD147 発現が欠損した骨髄キメラマウスを作成して検討した。CD147 ノックアウトマウスと同様、骨髄キメラマウスでも皮膚病変における Th17 細胞数の減少、皮膚炎症状の軽減、脾臓の Th17 細胞数の低下がみられた。

以上の結果は、CD4<sup>+</sup>T 細胞上の CD147 が解糖系を介して Th17 細胞への分化を促進し乾癬の病態形成に重要な役割を果たしていることを示す。

乾癬の病態に T 細胞の分化機構の観点からアプローチした研究は稀である。近年乾癬治療に用いられる生物学的製剤は Th17 細胞が産生する IL-17 や Th17 を活性化する IL-23 をターゲットとしているのに対して、Th17 細胞への分化を制御するより根本的な治療の開発につながる成果である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yonekura K, Takeda K, Kawakami N, Kanzaki T, Kanekura T, Utsunomiya A	4. 巻 99
2. 論文標題 Therapeutic Efficacy of Etrexinate on Cutaneous-type Adult T-cell Leukemia-Lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Dermato Venereologica	6. 最初と最後の頁 774 ~ 776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2340/00015555-3196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haraguchi Misako, Fukushige Tomoko, Kanekura Takuro, Ozawa Masayuki	4. 巻 18
2. 論文標題 E-cadherin loss in RMG-1 cells inhibits cell migration and its regulation by Rho GTPases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100650 ~ 100650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100650	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujii Kazuyasu, Uchida Youhei, Hatanaka Miho, Jimura Nozomi, Okubo Aoi, Sakanoue Masanao, Higashi Yuko, Kawabata Hisashi, Kanekura Takuro	4. 巻 46
2. 論文標題 Numbers of forkhead box P3 positive cells and programmed cell death 1 positive cells were associated with spontaneous regression in a patient with primary cutaneous diffuse large B cell lymphoma with multiple lesions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14948	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamamoto Mika, Harada Yoichiro, Suzuki Takehiro, Fukushige Tomoko, Yamakuchi Munekazu, Kanekura Takuro, Dohmae Naoshi, Hori Kanji, Maruyama Ikuro	4. 巻 580
2. 論文標題 Application of high-mannose-type glycan-specific lectin from <i>Oscillatoria Agardhii</i> for affinity isolation of tumor-derived extracellular vesicles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 21 ~ 29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.06.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ibusuki Atsuko, Nishikawa Takuro, Hiraki Tsubasa, Okano Tsubasa, Imai Kohsuke, Kanegane Hirokazu, Ohnishi Hidenori, Kato Zenichiro, Fujii Kazuyasu, Tanimoto Akihide, Kawano Yoshifumi, Kanekura Takuro	4. 巻 46
2. 論文標題 Prominent dermal Langerhans cells in an Omenn syndrome patient with a novel mutation in the IL2RG gene	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiraki Tsubasa, Hatanaka Miho, Arimura Akiko, Kawahira Hisao, Kirishima Mari, Kitazono Ikumi, Horinouchi Michiko, Higashi Michiyo, Kanekura Takuro, Tanimoto Akihide	4. 巻 47
2. 論文標題 Granulomatous/sarcoid like reactions in the setting of programmed cell death 1 inhibition: a potential mimic of disease recurrence	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cutaneous Pathology	6. 最初と最後の頁 154 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cup.13569	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishikawa Takuro, Okamura Ken, Moriyama Mizuki, Watanabe Kenji, Ibusuki Atsuko, Sameshima Seiji, Masamoto Izumi, Yamazaki Ieharu, Tanita Kay, Kanekura Takuro, Kanegane Hirokazu, Suzuki Tamio, Kawano Yoshifumi	4. 巻 47
2. 論文標題 Novel AP3B1 compound heterozygous mutations in a Japanese patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 185 ~ 189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15177	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanekura T.	4. 巻 45
2. 論文標題 Clinical and immunological effects of adsorptive myeloid lineage leucocyte apheresis in patients with immune disorders.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 945-950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14471.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sun X, Xiao Y, Zeng Z, Shi Y, Tang B, Long H, Kanekura T, Wang J, Wu H, Zhao M, Lu Q, Xiao R.	4. 巻 30
2. 論文標題 All-trans retinoic acid induces CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells by increasing FoxP3 demethylation in systemic sclerosis CD4+ T cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol Res	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2018/8658156.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Baba A, Matsushita S, Kitayama K, Asakura T, Sezutsu H, Tanimoto A, Kanekura T.	4. 巻 107
2. 論文標題 Silk fibroin produced by transgenic silkworms overexpressing the Arg-Gly-Asp motif accelerates cutaneous wound healing in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biomed Mater Res Part B	6. 最初と最後の頁 97-103.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34098.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Guo X, Nocuchi H, Ishii N, Homma T, Hamada T, Hiraki T, Zhang J, Matsuo K, Yokoyama S, Ishibashi H, Fukushige T, Kanekura T, Fujii J, Uramoto H, Tanimoto A, Yamada S.	4. 巻 30
2. 論文標題 The Association of Peroxiredoxin 4 with the Initiation and Progression of Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antioxid Redox Signal	6. 最初と最後の頁 1271-1284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2017.7426.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujita H, Terui T, Hayama K, Akiyama M, Ikeda S, Mabuchi T, Ozawa A, Kanekura T, Kurosawa M, Komine M, Nakajima K, Sano S, Nemoto O, Muto M, Imai Y, Yamanishi K, Aoyama Y, Iwatsuki K.	4. 巻 45
2. 論文標題 Japanese Guidelines for the Management and Treatment of Generalized Pustular Psoriasis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 1235-1270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14523.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshifuku A, Fujii K, Kanekura T.	4. 巻 45
2. 論文標題 Comparison of oxidative stress on DNA, protein, and lipid in patients with actinic keratosis, Bowen's disease, and squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 1319-1323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14631.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murase C, Takeuchi T, Shibata A, Nakatochi M, Kinoshita F, Kubo A, Nakajima K, Ishii N, Amano H, Masuda K, Kawakami H, Kanekura T, Washio K, Asano M, Teramura K, Akasaka E, Tohyama M, Hatano Y, Ochiai T, Moriwaki S, Sato T, Ishida-Yamamoto A, Seishima M, Kurosawa M, Ikeda S, Akiyama M.	4. 巻 92
2. 論文標題 Cross-sectional survey on disease severity in Japanese patients with harlequin ichthyosis/ichthyosis: Syndromic forms and quality-of-life analysis in a subgroup.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci	6. 最初と最後の頁 127-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2018.08.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harada Y, Suzuki T, Fukushige T, Kizuka Y, Yagi H, Yamamoto M, Kondo K, Inoue H, Kato K, Taniguchi N, Kanekura T, Dohmae N, Maruyama I.	4. 巻 1863
2. 論文標題 Generation of the heterogeneity of extracellular vesicles by membrane organization and sorting machineries.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta - Gen Subjects	6. 最初と最後の頁 681-691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.01.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Okubo Aoi, Uchida Youhei, Higashi Yuko, Ryuge Akihiro, Kadomatsu Kenji, Takuro Kanekura
2. 発表標題 CD147/Basigin regulates Th17 cell differentiation and contributes to the pathogenesis of psoriasis.
3. 学会等名 第34回 表皮細胞研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aoi Okubo, Youhei Uchida, Yuko Higashi, Akihiro Ryuge, Kenji Kadomatsu, Takuro Kanekura
2. 発表標題 CD147/Basigin regulates Th17 cell differentiation and contributes to the pathogenesis of psoriasis.
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大久保葵, 内田洋平, 東 裕子, 龍華章裕, 門松健治, 金蔵拓郎
2. 発表標題 CD147/Basigin はTh17細胞への分化を制御し乾癬の病態形成に関与する
3. 学会等名 第14回 桜ヶ丘地区基礎系研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aoi Okubo, Youhei Uchida, Yuko Higashi, Akihiro Ryuge, Kenji Kadomatsu, Takuro Kanekura
2. 発表標題 CD147/Basigin regulates Th17 cell differentiation and contributes to the pathogenesis of psoriasis.
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大久保葵, 内田洋平, 東 裕子, 龍華章裕, 門松健治, 金蔵拓郎
2. 発表標題 CD147/Basigin はTh17細胞への分化を制御し乾癬の病態形成に関与する
3. 学会等名 第14回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 金蔵拓郎
2. 発表標題 膿疱性乾癬の新たな治療
3. 学会等名 皮膚疾患 Clinical Conference (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関