

令和 3 年 4 月 13 日現在

機関番号：34519
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K08284
研究課題名(和文) IL-33によって誘導される皮膚炎の分子病態に関する研究

研究課題名(英文) The pathogenesis of dermatitis induced by IL-33

研究代表者

今井 康友 (Imai, Yasutomo)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10529514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：インターロイキン-33(IL-33)はアレルギーを誘発する炎症性サイトカインである。IL-33を過剰産生する遺伝子改変マウス(IL-33Tg)はアトピー性皮膚炎(AD)を自然発症した。IL-33Tgマウスの皮膚に誘導される遺伝子群を解析し、ネコアレルギーの主要抗原に類似した分泌タンパクであるScgbファミリーが高発現することを見だし、特にScgbファミリー遺伝子の発現はケラチノサイトで増加することが判明した。ヒトAD患者においても、同様に表皮でScgbファミリー蛋白が増加していた。今後はScgbファミリーの機能解析を行っていく必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者らはIL-33Tgマウス皮膚におけるmRNAのマイクロアレイデータをもとにクラスター分析、主成分分析を行い、皮疹の発症とともに特異的にScgbファミリーの遺伝子が誘導されることを見いだした。ヒトScgbファミリーは主要なネコアレルギー抗原(major cat allergen)であるFel d1(CH2)と相同性が高い。つまり、Scgbファミリーは抗原として働く可能性が推測された。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-33 (IL-33) is a pro-inflammatory cytokine that induces allergy. We analyzed the gene clusters induced in the skin of IL-33Tg mice and found that the Scgb family of secreted proteins, which are similar to the major antigens of feline allergy, are highly expressed, and the expression of Scgb family genes in particular was found to be increased in keratinocytes. In human AD patients, Scgb family proteins were also found to be increased in the epidermis. In the future, it will be necessary to conduct functional analysis of the Scgb family.

研究分野：皮膚免疫学

キーワード：IL-33 Scgb

1. 研究開始当初の背景

IL-33はIL-1ファミリーに属する炎症性サイトカインで、上皮系細胞の核内に活性型として存在する。申請者らは、種々のアレルギーを引き起こす物質、例えばハプテンによる刺激によりIL-33が角化細胞から細胞外に放出されることを明らかにしてきた (Imai Y, et al. J Dermatol Sci, 74, 159-161, 2014)。即ち、IL-33はテープストリッピングやハプテン等の種々の刺激によって遊離する警報因子“アラミン”である。ヒトのアトピー性皮膚炎 (AD) の表皮ケラチノサイトではIL-33が高発現しており、ADの皮膚は「アラミンが過剰」な状態である。この病態を再現するため、申請者らは、ヒトケラチン14をプロモーターとしてIL-33を表皮で過剰産生する遺伝子改変マウス (IL-33Tg) を樹立した。このマウスではIL-33受容体を発現する2型自然リンパ球 (group 2 innate lymphoid cells; ILC2) が活性化し、IL-5やIL-13などのTh2サイトカイン産生の増加を伴ってADに酷似する皮膚炎が自然発症したため、ADの新しい発症機序としてIL-33によって活性化された2型自然リンパ球がTh2サイトカインを産生し、ADの病態を生じるといふ仮説を提唱した。しかし、そのダウンストリーム効果は未知であった。

2. 研究の目的

IL-33Tgマウス皮膚の病変部、非病変部、野生型マウス皮膚におけるmRNAのマイクロアレイデータをもとにクラスター分析、主成分分析を行い、皮疹の発症とともに特異的に発現が誘導される遺伝子のうち、アトピー性皮膚炎に関与しそうなものを同定して解析する。

3. 研究の方法

皮疹の発症とともに特異的に発現が誘導されるScgbファミリー遺伝子を同定した。Scgbに類似した構造を持つプロラクチン誘導タンパクに関しては、ADの表皮で増加しており苔癬化促進などの免疫学的役割が示唆されている (Sugiura S, et al. J. Invest. Dermatol, 135, 776-785, 2014)。従って、Scgbファミリーも表皮に対する免疫調整作用があると推測される。そこで、IL-33Tgマウスの皮膚やアトピー性皮膚炎患者でin situ ハイブリダイゼーションや免疫染色を行い、アトピー性皮膚炎におけるこれらの分子がどこで発現しているのか、その局在を検討する。

4. 研究成果

まず、マイクロアレイの結果から、Scgbファミリー遺伝子であるScgb2b2に着目した。定量的PCRによって、IL-33Tgマウスにおいては、Scgb2b2が皮膚で強発現していることが判明した (図1) 次に、その局在を知るために、in situ ハイブリダイゼーションをマウス皮膚で行った。すると、Scgb2b2はIL-33Tgマウスの表皮において強発現していることが判明した (図2)。

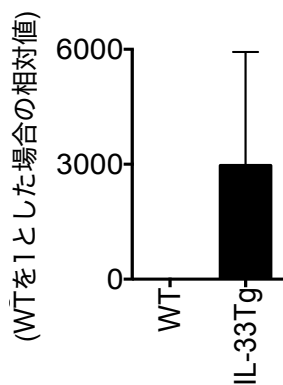


図1 Scgb2b2の発現増強

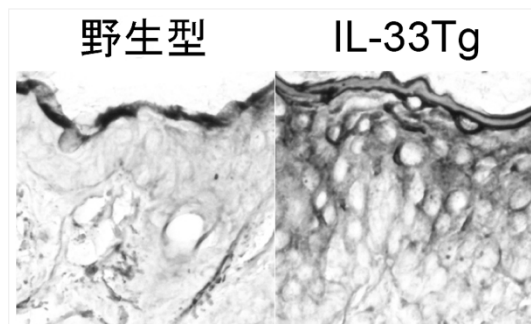


図2 Scgb2b2のin situ ハイブリダイゼーション。IL-33Tgマウス表皮で遺伝子の発現が増加。

また、自己抗原としての Scgb の役割が推測された。ヒト Scgb ファミリーは主要なネコアレルギー抗原 (major cat allergen) である Fel d1 (CH2) と同一性が高く、抗原として働く可能性が示唆された (図 3)。

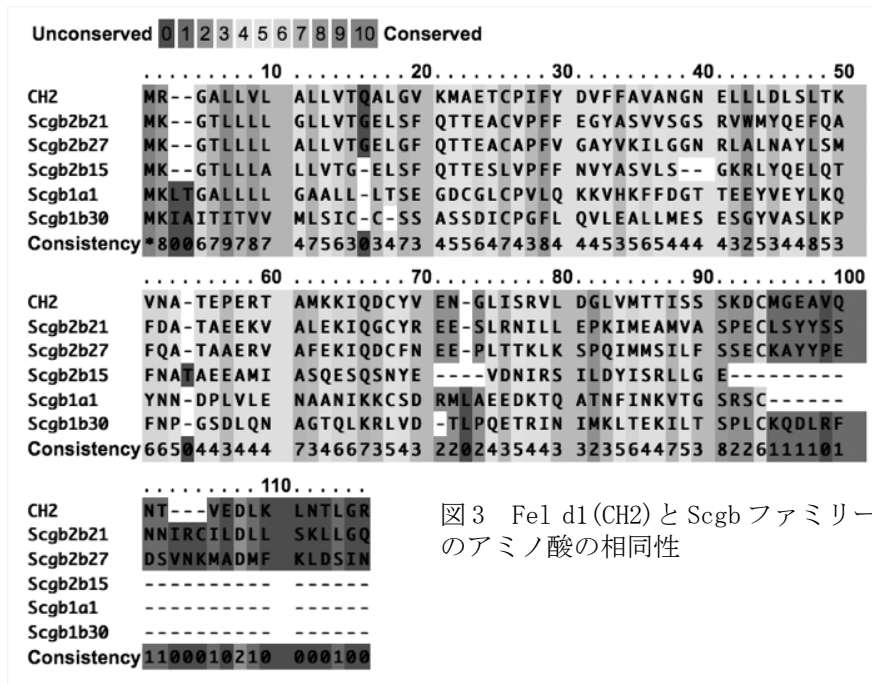


図 3 Fel d1 (CH2) と Scgb ファミリーのアミノ酸の同一性

最後に、タンパク質レベルでの発現を検討するため、ヒトのアトピー性皮膚炎患者で Scgb2b2 の免疫染色を行った。もともと Scgb2b2 は正常皮膚のケラチノサイトの核にも染色されるが、アトピー性皮膚炎患者のケラチノサイトでは、Scgb2b2 の発現が核ならびに細胞質で増強していた (図 4)。

このように、本研究によって、Scgb ファミリー分子の高発現は実際のヒトの AD においても観察されることが判明し、その機能は苔癬化促進などの炎症への関与が疑われた。

今後はこの分子や、関連分子について、その機能解析について、さらなる研究を進行していく予定である。具体的には、具体的には、実績のあるヒトケラチン 14 プロモーター下にマウス Scgb2b2 cDNA を組換えたトランスジェーンを B6 マウス受精卵に導入してトランスジェニック (Tg) マウスを作成する予定である。

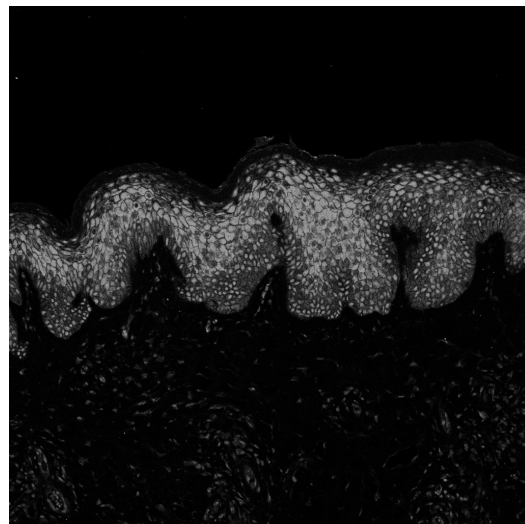


図 4 Scgb2b2 の免疫染色。正常皮膚とは異なり、アトピー性皮膚炎患者では、ケラチノサイトの核だけでなく細胞質にも染色される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yu S, Wu X, Zhou Y, Han D, Anderson LS, Simon SI, Hwang ST, Imai Y	4. 巻 139
2. 論文標題 Is CCR6 required for the development of psoriasiform dermatitis in mice?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 485-488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2018.07.036	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 該当する
1. 著者名 Imai Y, Yamahara K, Hamada A, Fujimori Y, Yamanishi K	4. 巻 46
2. 論文標題 Human amnion-derived mesenchymal stem cells ameliorate imiquimod-induced psoriasiform dermatitis in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 276-278
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.14768	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 Imai Y, Yasuda K, Nagai M, Kusakabe M, Kubo M, Nakanishi K, Yamanishi K	4. 巻 139
2. 論文標題 IL-33-induced atopic dermatitis-like inflammation in mice is mediated by group 2 innate lymphoid cells in concert with basophils	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol	6. 最初と最後の頁 2185-2194
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.04.016	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 Fujimoto M, Imai Y, Tateishi C, Tsuruta D, Yamanishi K	4. 巻 2
2. 論文標題 Anti-BP230 antibody positive bullous pemphigoid complicated by ulcerative colitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cutan Immunol Allergy	6. 最初と最後の頁 148-149
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cia2.12079	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 Matsutani M, Imai Y, Inoue Y, Hosotani Y, Kusakabe M, Natsuaki M, Yamanishi K	4. 巻 3
2. 論文標題 Real-world use of dupilumab for 53 patients with atopic dermatitis in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cutan Immunol Allergy	6. 最初と最後の頁 35-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12099	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 Imai Y, Kusakabe M, Nagai M, Yasuda K, Yamanishi K	4. 巻 1
2. 論文標題 Dupilumab effects on innate lymphoid cell and Th cell populations in patients with atopic dermatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JID Innovations	6. 最初と最後の頁 ID:100003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xjidi.2021.100003	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 -

[学会発表] 計18件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎の治療標的としてのIL-4とIL-33
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imai Y, Nagai M, Kusakabe M, Yasuda K, Nakanishi K, Yoshimoto T, Yamanishi K
2. 発表標題 Ablation of basophils reduces ILC2-dependent atopic dermatitis-like inflammation in mice overexpressing interleukin-33 in the skin
3. 学会等名 International Investigative Dermatology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nagai M, Wada Y, Kusakabe M, Imai Y, Yamanishi K.
2. 発表標題 A case of late-onset localized epidermolysis bullosa simplex associated with a missense mutation of p.Asp158Ala in the head domain of keratin 5
3. 学会等名 The 6th Continental Congress of Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 草壁みのり, 今井康友, 安田好文, 永井諒, 山西清文
2. 発表標題 カスパーゼ1/11が、IL-33の分泌を制御してIL-33誘導性アトピー性皮膚炎の増悪に関与するかもしれない
3. 学会等名 第48回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友, 細谷友雅, 石川裕人, 草壁みのり, 五味文, 山西清文
2. 発表標題 アトピー性角結膜炎モデルマウスにおける2型自然リンパ球(ILC2)の可視化
3. 学会等名 第1回日本眼科アレルギー学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 IL-33はケラチノサイトのclaudin-1発現を下げる
3. 学会等名 第117回 日本皮膚科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 IL-33は皮膚バリア機能を直接弱体化する
3. 学会等名 第50回兵庫県臨床アレルギー研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 IL-33は2型自然リンパ球と好塩基球を活性化してアトピー性皮膚炎に關与する
3. 学会等名 第83回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 アラームの免疫学
3. 学会等名 第82回日本皮膚科学会東部支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 基礎からわかる，乾癬治療の薬剤選択
3. 学会等名 第48回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 基礎研究から見えてきた乾癬の病態
3. 学会等名 第69回日本皮膚科学会中部支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井康友
2. 発表標題 私の考えるTNF 阻害剤に適さない乾癬患者像
3. 学会等名 第117回 日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Imai Y, Kusakabe M, Nagai M, Inoue Y, Natsuaki M, Yamanishi K
2. 発表標題 Dupilumab's Effects on Circulating Group 2 Innate Lymphoid Cell and T Helper Type 2 Cell Populations in Patients with Atopic Dermatitis
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 Kusakabe M, Imai Y, Nagai M, Yasuda K, Kuroda E, Tomura M, Yamanishi K
2. 発表標題 Single-Cell RNA Sequencing Reveals Novel Cutaneous Group 2 Innate Lymphoid Cell Subtypes, Circulating ILC2, and Skin-Resident ILC2
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

〔図書〕 計1件

1. 著者名 今井康友 (共同執筆、 福井次矢 編)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2192
3. 書名 今日の治療指針2020年度版	

〔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
---------	---------