

令和 3 年 5 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16067

研究課題名（和文）光線治療における乾癬患者末梢血のILC2とILC3のバランスの検討

研究課題名（英文）The balance between ILC2 and ILC3 in peripheral blood of psoriasis patients in phototherapy

研究代表者

西田 絵美（NISHIDA, Emi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・研究員

研究者番号：80597534

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）：乾癬患者の末梢血を用いて、今まで知られてきた獲得免疫ではなく自然免疫の役割を担う自然リンパ球（ILC）のうちILC2、ILC3のサブタイプのバランスが光線によってどのように変化するかをみることで、このバランスが乾癬への方向付けを行うかを明らかにすることを目的に本研究を行うこととした。患者検体の採取については問題はなかったものの、以前より報告のある方法にて末梢血におけるILC2またILC3細胞の同定を試みるも困難であったことから、上記研究を進めることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾癬は抗原特異的な反応により起こるとされており、近年もマウスモデルにおいて、表皮抗原特異的Th17細胞が乾癬様の皮膚症状を誘導することが示されたが、実際のヒトの病変皮膚での特異抗原の同定は困難であり、乾癬病変部のT細胞受容体のレパトア解析も行われている。こういった中、非特異的な免疫反応として自然免疫を担う細胞であるILCが注目されるようになり、乾癬の皮膚組織、末梢血にも存在することが報告され、特にILC3はその役目を担っていると考えられている。しかしILCを含む免疫細胞の同定がまだまだ困難であることは今回の研究からも実感することであり、その他の研究手法、技術を用いた簡便な方法の開発が望まれる。

研究成果の概要（英文）：The balance of ILC2 and ILC3 subtypes of innate lymphoid cells (ILCs), which play a role in innate immunity rather than acquired immunity, is changed by UV therapy using peripheral blood of psoriasis patients. The purpose of this study was to clarify this balance. We can collect samples of psoriasis patients, but it was difficult to try to identify ILC2 and ILC3 cells in peripheral blood by a previously reported method, so the above study could not perform.

研究分野：乾癬

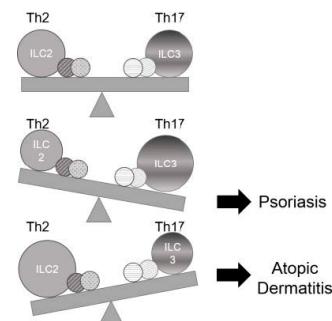
キーワード：乾癬 ILC 光線

1. 研究開始当初の背景

乾癬は抗原特異的な反応により起こるとされており、近年もマウスモデルにおいて、表皮抗原特異的 Th17 細胞が乾癬様の皮膚症状を誘導することが示された。(J Immunol 191: 3065-72, 2013)。しかし実際のヒトの病変皮膚での特異抗原の同定は困難であり、乾癬病変部の T 細胞受容体のレパトア解析も行われている。こういった中、非特異的な免疫反応として自然免疫を担う細胞である ILC が注目されるようになり、乾癬の皮膚組織、末梢血にも存在することが報告され、特に ILC3 はその役目を担っていると考えられている。ILC3 は乾癬においては末梢血より皮膚により多く存在するが、皮膚においては、皮疹部にも無疹部にも存在すると報告されている。(Teunissen et al, J Invest Dermatol 134: 2351-2360, 2014)) ILC3 は樹状細胞からの IL-23 刺激により IL-17、IL-22 のサイトカインを産生するとされているが、これは IL-17 の産生源となる CD8+T 細胞、 T 細胞、NKT 細胞以外の新たなソースとも考えられる。また ILC3 とは別に IL-5 , IL-13 を産生する ILC2 は、ILC2 から産生された IL-13 が樹状細胞の所属リンパ節への遊走や活性化を促し ,naïve CD4T 細胞の Th2 細胞分化を誘導することがわかり(Halim et al, Immunity, 40: 425, 20145))、気管支喘息慢性期における Type 2 免疫応答の引き金となったりアトピー性皮膚炎、好酸球性副鼻腔炎と関連するとされている。

また我々のグループは以前より乾癬の光線治療について臨床の場でも非常に多くの患者に対し治療を行うとともに、光線治療の病態について研究を行ってきた。PUVA バスによる免疫抑制効果に関しては、乾癬患者の末梢血において FoxP3 陽性制御性 T 細胞を誘導し、この制御性 T 細胞 (Treg)の誘導が患者の臨床症状と反比例していることを明らかにしている (Saito C et al. J Dermatol Sci, 53: 231-233, 2009)。さらに PUVA バス治療は末梢血の Treg のうち activated Treg と resting Treg の分画についても報告している (Kubo R et al. J Dermatol Sci, 86: 46-53, 2017) 。乾癬患者に対して光線療法を行ったあと、1 年以上再燃せずに経過する患者をしばしば経験することがある。生物製剤のように抗体製剤を投与し血中濃度が維持されている間、皮膚症状が改善するのではなく、光線治療によって乾癬の病態を動かすことができれば完治も夢ではない。

Treg の免疫抑制効果のほか、光線療法の新たな作用として、自然免疫に関わる ILC への作用についてはいまだ報告がない。右図のように ILC2、ILC3 のサブタイプのバランスが光線によってどのように変化するかをみることで、乾癬もしくはアトピー性皮膚炎への方向付けを行うかを明らかにすることを目的に本研究を行うこととする。光線療法からこれら ILC のうち ILC2、ILC3 のバランスを知ることは、今後の光線治療を考える上でも重要であると考えられる。



2. 研究の目的

乾癬はアトピー性皮膚炎と同様、慢性の難治性皮膚疾患として皮膚科の臨床の場においても、研究者の間でも非常に注目される疾患であるが、いまだ病態については明らかとなっていないところも多く完全に治癒することは多くはない。また日本においては欧米に比べ有病率が 1-2% と必ずしも多くなく、当施設においては乾癬の新規患者数は 120 人を超え、自身の外来では週に 40 人を超える乾癬患者を診察、治療する環境にある。また光線治療についても数多くの治療機器を有することもあり、紫外線に関する研究についても以前より行ってきた。これらのバックグラウンドから今回、乾癬患者の末梢血を用いて、今まで知られてきた獲得免疫ではなく自然免疫の役割を担う自然リンパ球(ILC)のうち ILC2、ILC3 のサブタイプのバランスが光線によってどのように変化するかをみることで、このバランスが乾癬もしくはアトピー性皮膚炎への方向付けを行うかを明らかにすることを目的に本研究を行うこととする。

3. 研究の方法

当院の外来もしくは入院中の乾癬患者に研究目的を説明の上、同意を得られた患者から採血を行う。20cc のヘパリン加採血を行い ficoll-plaque density gradient centrifugation によって末梢血単核球 PBMC を抽出し、MACS マイクロビーズ (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) を用いて CD3+細胞を micro beads でラベルして deplete したあと、 CRTH-FITC, CD127-biotinylate, NKp44-APC で 15 分染色後、洗浄し、 CD94-PerCP-Cy5.5, c-KIT(CD117)-BV421, Streptavidine-PE-Cy7 と Lineage マーカー、Live dead で 15 分染色後、FACS を施行。NKp44+ILC3 細胞を同定し、また CD117 + CRTH2 + 細胞を ILC2 細胞とする。これらの割合をアトピー性皮膚炎患者コントロールと比較する。

4. 研究成果

我々のグループは以前より乾癬の光線治療について臨床の場でも非常に多くの患者に対し治療を行うとともに、光線治療の病態について研究を行ってきた。その際にも、PBMCを採取して、別の細胞に対する免疫染色を行うことができたため、今回他の論文での報告があるように ILC2 また ILC3 といった新規の細胞の同定のための染色を計画するも、期間内での免疫染色方法の確立はできなかった。

末梢血または皮膚組織中の ILC を含む免疫細胞の同定については、いまだ定型的な染色方法は確立されておらず、今回の研究からもそれを実感することとなった。このことから今回の方法以外に別の研究手法、技術を用いた簡便な同定方法の開発が望まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究協力者	森田 明理 (MORITA AKIMICHI)	名古屋市立大学大学院医学研究科・加齢環境皮膚科学・教授 (23903)	

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