

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06226・19K21326

研究課題名(和文) 外的刺激に対する皮膚免疫応答における補体系の機能解析

研究課題名(英文) The role of complement system in the cutaneous immune response toward external stimuli

研究代表者

渋谷 倫太郎 (Shibuya, Rintaro)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：30823059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：今回われわれは、代表的な刺激因子のひとつであるドデシル硫酸ナトリウム(SDS: sodium dodecyl sulfate)への反復暴露により皮膚では補体系が活性化すること、補体経路の内C5a-C5aR1経路が炎症細胞の皮膚への浸潤に重要であることを明らかにした。さらに、C5aR1の発現を全てのマクロファージ、そして一部の好中球、単球、樹状細胞、好酸球、好塩基球において確認し、骨髄キメラマウスを用いた実験により放射線感受性細胞におけるC5aR1が重要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原体や化学物質などの外的刺激に対する自然免疫応答は、宿主の生体防御機構として重要である。外的刺激により皮膚がダメージを受けると、末梢血から炎症細胞が障害を受けた皮膚局所に集まることで病原体の貪食や組織修復を行う。今回われわれは、界面活性剤への反復暴露により皮膚では補体系が活性化し、血球系細胞におけるC5a-C5aR1経路が炎症細胞の皮膚への浸潤に重要であることを明らかにした。生体防御に関わる自然免疫応答に補体が必須であることが本研究を通して明らかとなり、補体系の新たな免疫調整作用を明らかにできたという意義がある。

研究成果の概要(英文)：In our study, we have identified the activation of complement system in the skin which has been exposed to sodium dodecyl sulfate, one of the major irritants. We also clarified C5a-C5aR1 axis is essential to the immune response induced by SDS application. C5aR1 was expressed by all macrophages, and a part of neutrophils, monocytes, dendritic cells, eosinophils, and basophils. Further, we have shown that C5aR1 signaling on radiosensitive cells is important for the skin inflammation caused by SDS application.

研究分野：皮膚科学

キーワード：刺激性皮膚炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

病原体などによる外的刺激に対する応答は、宿主の生体防御機構として重要な自然免疫応答である。皮膚の障害によって誘導される免疫応答においては、表皮より IL-1 や TNF- α が放出されることが炎症の引き金となることが知られている。また、皮膚へ浸潤する好中球や単球/マクロファージが病原体の貪食や組織修復に重要な役割を担うことが知られる。しかし、表皮由来の因子がどのような真皮の応答を経ることで、これらの炎症細胞浸潤をもたらすのかという点は不明であった。

補体系は、外来病原体に対する生体防御機構として自然免疫系の一端を担う。肺や腸管においては、上皮バリア障害によって補体系が活性化することが知られ、皮膚においても同様に表皮の傷害によって活性化することが示唆される。

2. 研究の目的

皮膚のバリア障害に起因する自然免疫応答に補体系が関与するのかどうかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

・外的刺激に対する皮膚免疫応答を評価するためのモデルとして、代表的な刺激因子の一つであるドデシル硫酸ナトリウム(SDS: sodium dodecyl sulfate)をマウス耳介に塗布した

・ SDS によって誘導される皮膚免疫応答を ELISA、免疫染色、フローサイトメトリーで解析した

・ SDS による皮膚炎への補体系の関与を検証するために、野生型マウスを比較対象として、C3 欠損マウスならびに C5aR1 欠損マウスを用いた。また、補体経路がどの細胞において特に関与するかを検証するために、骨髄キメラマウスを作成し、上記手法により解析した。

4. 研究成果

われわれはまず、補体経路の活性化に必須である C3 欠損マウスにおいて SDS による耳介腫脹ならびに皮膚への炎症細胞浸潤が野生型マウスと比較して減弱することを確認した。SDS を塗布した野生型マウスの皮膚においては、C3 ならびに補体活性化成分の一つである C5a 量が無処置の皮膚と比較して高いことを ELISA により確認し、SDS 塗布による皮膚炎では補体系が活性化していることが示唆された。

次に、C5a の特異的受容体である C5aR1 を欠損したマウスにおいて、SDS による耳介腫脹ならびに皮膚への炎症細胞浸潤が減弱することを確認した。さらに、どのような細胞における C5a-C5aR1 経路が関与するのかが検証するため、骨髄キメラマウスを作製した。その結果、C5aR1 欠損マウス由来の骨髄を移植した野生型マウスでは、野生型マウス由来の骨髄を移植した野生型マウスと比較して、SDS 反復塗布による耳介腫脹が減弱し、好塩基球などの炎症細胞浸潤も減弱した。この結果から、放射線感受性細胞における C5aR1 が SDS による刺激性皮膚炎において重要であることが示唆された。

次に、定常状態での皮膚免疫細胞における細胞表面の C5aR1 発現をフローサイトメトリーにより確認した。その結果、マクロファージにおいてはほぼ全ての細胞で、好中球、単球、樹状細胞、好酸球、好塩基球においては一部の細胞で発現が確認された。肥満細胞、T 細胞においては明らかな C5aR1 の発現は確認されなかった。今回 C5aR1 発現が確認された細胞のうち、好中球、単球、樹状細胞、好酸球、好塩基球は放射線感受性細胞であり、マクロファージは一部が放射線耐性細胞であることから、SDS 反復塗布による刺激性皮膚炎においては好中球、単球、樹状細胞、好酸球、好塩基球における C5a-C5aR1 の関与が示唆された。

また、SDS 反復塗布による皮膚炎において、好塩基球が早期より皮膚へ浸潤することを

確認した。また、好塩基球をジフテリア毒素により除去することのできる BasTRECK マウスを用いて、SDS 塗布による耳介腫脹ならびに炎症細胞浸潤が好塩基球の除去によって減弱することを確認した。今回の検証結果から、SDS 皮膚炎において好塩基球における C5aR1 が皮膚への浸潤あるいは皮膚へ浸潤した後の活性化に関与しているのではないかという仮説を立て、好塩基球特異的な C5aR1 欠損マウスを導入することで、この仮説をさらに検証する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Rintaro Shibuya
2. 発表標題 Essential role of basophils in the recruitment of phagocytes to the damaged skin
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rintaro Shibuya
2. 発表標題 Essential Roles of CCL2-CCR2 and C5a-C5aR1 Pathways in Irritant Contact Dermatitis
3. 学会等名 The 8th NIF Winter School on Advanced Immunology (国際学会)
4. 発表年 2019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