

機関番号 : 23903

研究種目 : 若手研究 (B)

研究期間 : 2008~2010

課題番号 : 20790809

研究課題名 (和文) 紫外線による免疫抑制機序の解析
(UVB および UVA 領域での波長ごとの解析)

研究課題名 (英文) The mechanism analysis of immune suppression by ultraviolet

研究代表者

新谷 洋一 (SHINTANI YOICHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号 : 10336688

研究成果の概要 (和文) : 近年使用されるようになってきたナローバンド UVB と UVA-1 の免疫抑制効果を検討した。その結果、ナローバンド UVB では接触過敏反応、遅延型過敏反応のどちらも抑制をきたし、これは抗原特異的であった。また各種波長の紫外線をモノクロメーターを利用して照射したところ、310nm をピークに免疫抑制効果がみられた。このことはナローバンド UVB の臨床効果の証明の一つの根拠と考えることができる。UVA1 では、ナローバンド UVB や従来から使用されている UVB とは異なり、免疫抑制はかかるものの抗原特異的ではなく、別の効果発現機序が考えられた。

研究成果の概要 (英文) :

Narrow-band UVB and UVA1 is used more often to treat refractory skin diseases. We have tested whether narrow-band and UVA1 have a capacity to induce immune suppression. Narrow-band UVB suppressed delayed-type hypersensitivity (DTH) and contact hypersensitivity by inducing the production of antigen-specific regulatory T cells. The ultraviolet wavelength that induces regulatory T cells to DTH, however, was not known. A monochromator was used to irradiate a mouse DTH model using several UVB wavelengths (290 nm, 300 nm, 310 nm, and 320 nm). All the wavelengths tested significantly suppressed DTH, with 310 nm inducing peak immune suppression. UVA1 also induced immune suppression without antigen specificity, indicating the mechanisms might be different from narrow-band induced immune suppression.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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, 免疫抑制、制御性 T 細胞

1. 研究開始当初の背景

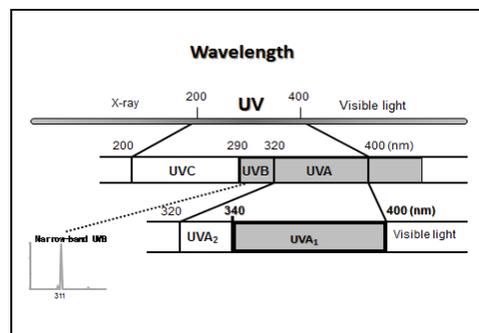
慢性皮膚疾患は生命を脅かすことは少ないが、皮膚に病変があるため、他人から認知されやすく、患者の生活に大きな影響をあたえている。その慢性皮膚疾患の代表的なものとしてアトピー性皮膚炎や尋常性乾癬がある。両疾患の治療の第1選択は外用ステロイドで、アトピー性皮膚炎においてはタクロリムス軟膏、尋常性乾癬においては vitamin D 軟膏が使用されている。しかし難治な症例も多いのが現状である。そのような最重症な患者に対し紫外線治療やシクロスポリンの様な免疫抑制剤の内服が第2選択として使用され治療効果をあげている。しかし、紫外線治療には日焼けや発癌の危険性が、シクロスポリン内服には、腎障害などの副作用の可能性がある。紫外線治療には UVB(中波長紫外線(290-320nm)やPUVA(ソラレン+UVA)が従来から使われてきているが、より効果的で副作用の少ない方法が望まれており、近年はナローバンドUVB(狭範囲中波長紫外線)やUVA1(長波長紫外線:340-400nm)などの新規の紫外線波長が使われるようになってきている。

2. 研究の目的

太陽光線はアトピー性皮膚炎や尋常性乾癬など難治性皮膚疾患に効果があることが古くから知られており利用されていた。また従来から使われている紫外線治療では、外用治療などの治療に比較して、寛解期間(治療後の皮疹の抑制されている期間)が長いことが経験的に知られている。その理由は、紫外線が制御性T細胞(Treg)を誘導するためと考えられている。紫外線の免疫抑制の研究は現在までも行なわれてきており、マウスの実験で通常のUVB(中波長紫外線(290-320nm))により、接触過敏反応(Contact hypersensitivity(以下CHS))や遅発性過敏反応(Delayed type hypersensitivity(以下DTH))が抑制されること、制御性T細胞(Treg)が誘導されることなどがわかっている。

近年使用されるようになってきたナローバンドUVBは、諸外国において生活制限の少なさや発癌性の問題などによりPUVA療法や通常のUVB療法にかわって、乾癬・アトピー性皮膚炎などの難治性皮膚疾患に対し使用されてきている光源である。ナローバンドUVBは311nmにピークをもったごく狭い波長で構成された紫外線光源であり、1981年にParrishらによって、乾癬の皮疹に対してUVBの各波長の紫外線をあて効果を検討したところ、311nm付近の紫外線で効果が良好に認められたことから開発されたものである。各

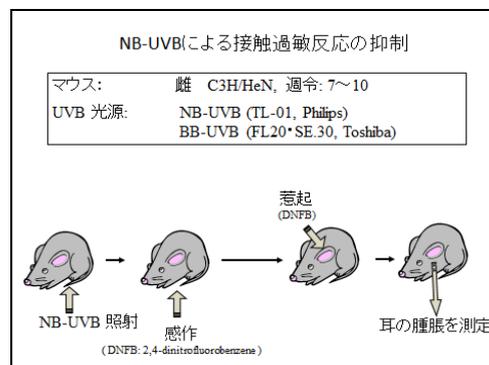
種波長ごとに分けて紫外線を照射し、波長ごとの免疫抑制効果の違いを検証する。また、もう一つの新たな紫外線治療であるUVA-1(340-400nm)を用いて、同様に免疫抑制が起こるかを検討する。



3. 研究の方法

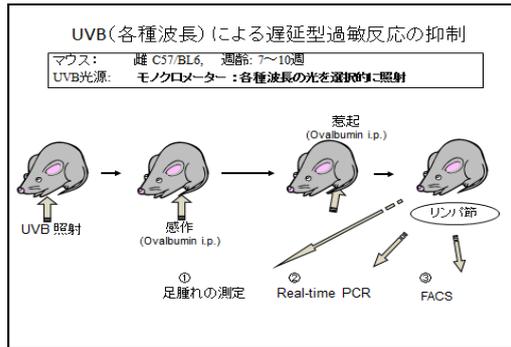
(1) ナローバンドUVBの免疫抑制効果

マウスの皮膚の毛を剃り、ナローバンドUVBを照射、同部位に感作物質を外用もしくは局注する。そして後日マウスの耳もしくは足に同一の感作物質で惹起をおこなうことでCHS、DTHの反応の抑制を確認する。そしてこの反応が抗原特異的免疫寛容を引き起こすかを確認する。



(2) 免疫抑制効果の有効波長の検討

マウスの皮膚の毛を剃り、モノクロメーターを用いて、狭波長の紫外線を各波長ごと(290nm~320nmの間:半値幅5nm)に照射し、DTHの反応における免疫抑制効果を確認する。また、そのマウスから別のマウスにリンパ球を移入し、反応が移行するかを確認することで、免疫寛容の有無を確認する。そして、そのリンパ節の細胞を検討することで、制御性T細胞(Treg)の存在などを確認し、それにかかわるサイトカインや機能分子の検索をおこない、臨床的に最も有効と考えられる紫外線を検討する。



(3) もう一つの新たな紫外線治療 UVA-1

もう一つの新たな紫外線治療である UVA-1 (340-400nm) を用いて、免疫抑制が起こるかを確かめる。またこの UVA-1 とナローバンド UVB を併用することでの免疫抑制効果を検討する。

4. 研究成果

(1) ナローバンド UVB の免疫抑制

CHS の反応において、ナローバンド UVB 照射し、感作・惹起を行ったところ、1000mJ/cm² 以上の照射で、免疫抑制作用を認めた。この反応は、免疫抑制をきたしたマウスの所属リンパ節の細胞を別のマウスに移入し、このマウスには紫外線を照射せず、感作惹起をおこなう移入実験においても免疫抑制をきたし、それは抗原特異的であった。以上のことより、抗原特異的免疫寛容が引き起こされることを証明した。この反応は DTH でも同様な結果であった。

(2) 免疫抑制効果の有効波長の検討

モノクロメーターを用いて各種波長の紫外線を照射した。波長は 290nm、300nm、310nm、320nm 半値幅 5nm とし、照射を行う群と行わない群にわけおこなった。その結果、DTH の反応において、抑制効果には差があり、それは 310nm をピークとした抑制がみられた。このことは、311nm をピーク波長とするナローバンド UVB の有効性の根拠の一つとなると考えられた。

そして、この免疫抑制が誘導されたマウスより別のマウスへリンパ節のリンパ球を移入し、その後感作、惹起し、今度は紫外線照射を行わなくても、紫外線照射を行ったマウスからリンパ球を移入したマウスにおいて足の腫脹が抑えられるかを確かめる移入実験を行ったところ、抑制効果が認められ免疫寛容を誘導できた。そのマウスからリンパ節、脾臓を取り出し、そこから T 細胞を分離、FACS、リアルタイム PCR を用いて解析したところ、制御性 T 細胞に発現するとされる Foxp3 の上昇がみられ、制御性 T 細胞の関与が示唆

された (投稿予定)。

(3) UVA-1 (340-400nm) による免疫抑制

UVA1 療法は機械の特殊性により NB-UVB ほどは一般的ではないものの、現在までにアトピー性皮膚炎、色素性蕁麻疹、全身性強皮症、尋常性乾癬などに効果があるとの報告がある。マウスの CHS・DTH において UVA1 で UVB と同様、DTH と CHS で抑制がみられるかを確認したところ、単回照射 (100J/cm²) では抑制がかからなかったが、連続照射にて反応の抑制がみられた。またこれらのマウスから所属リンパ節の細胞をとり別のマウスに移入し免疫寛容の誘導を確認したところ免疫寛容は誘導されなかった。これらのことから、UVA1 照射は、免疫抑制はおこなすが、抗原特異的な免疫寛容は誘導しないことが考えられた。免疫抑制機序解析のためランゲルハンス細胞、真皮樹状細胞の変化を確認したところ、UVA1 照射では、通常 UVB 照射で数が減少するという変化が抑制されていた。(投稿予定)。

(4) UVA-1 と別の紫外線との混合照射

UVA1 とナローバンド UVB を組み合わせると照射を行ない反応の変化を確認した。その結果、CHS のモデルにおいては免疫抑制をおこなうことができなかった。機序解析のため表皮シート、皮膚切片を用いて検索を行ったところ、表皮内のランゲルハンス細胞の数は、ナローバンド UVB 単独照射では減少がみられたのに対し、UVA1 単独照射では減少を示さず、また UVA1 照射をしたあとにナローバンド UVB を照射した場合でも減少せず、UVA1 照射が UVB によるランゲルハンス細胞の表皮からの減少を抑制する結果となった。これは真皮樹状細胞の数でも同様の傾向がみられた。このことから、UVA1 の照射により、ランゲルハンス細胞、真皮樹状細胞の機能変化をおこなうことが、免疫抑制の起こり方の変化に関係していると考えられる。現在、追試をおこない、さらに機序解析をすすめている。

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 5 件)

- ① 新谷洋一、ナローバンド UVB による奏効機序—免疫抑制、Monthly Book Derma、査読無、172 巻、2011、5-9
- ② Torii K, Saito C, Furuhashi T, Nishioka A, Shintani Y, Kawashima K, Kato H, Morita A, Tobacco smoke is related to Th17 generation with clinical implications for psoriasis patients, Exp Dermatol、査読有、20 巻、

- 2011、371-373
- ③ Torii K, Maeda A, Saito C, Furuhashi T, Shintani Y, Shirakata Y, Morita A, UVB wavelength dependency of antimicrobial peptide induction for innate immunity in normal human keratinocytes, *J Dermatol Sci*, 査読有、56 巻、2009、217-219
- ④ Morita A, Shintani Y, Nishida E, Kato H, Yoshida H, Minamoto M, Yamaguchi Y, Maeda A, Feasibility and accuracy of a newly developed hand-held device with a flat-type fluorescent lamp for measuring the minimal erythema dose for narrow-band UVB therapy、*Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 査読有、25 巻、2009、41-44
- ⑤ Kobayashi K, Yasuda Y, Shintani Y, Sumitomo T, Saga T, Kimura M, Yamamoto A, Mori T, Maeda A, Yamaguchi Y, Morita A、The development of a filter to enhance the efficacy and safety of excimer light (308 nm) therapy *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 査読有、25 巻、2009、30-36

[学会発表] (計 6 件)

- ① 新谷洋一、光の標的と臨床：光に対する免疫応答、第 22 回レーザー治療学会、2010/6/26、横浜
- ② Shintani Y、High-dose UVA1 in combination with narrow-band UVB irradiation completely suppresses UVB-induced Langerhans cell migration and diminishes UVB-induced tolerance、70th Society for Investigative Dermatology、2010/5/7、Atlanta, US
- ③ Shintani Y、UVA1 irradiation diminishes UVB-induced tolerance via inhibition of langerhans cell migration、日本研究皮膚科学会 第 34 回年次学術大会・総会、2009/12/4、福岡
- ④ 新谷洋一、繰り返し UVA1 照射による接触過敏反応・遅延型過敏反応の抑制効果、光医学光生物学会、2009/7/24、大阪
- ⑤ 新谷洋一、UVA1 照射の接触過敏反応・遅延型過敏反応への影響、UV-ABCclub-38、2009/2/28、愛知
- ⑥ Shintani Y、High-dose UVA1 radiation induces FoxP3+ regulatory T cells, but does not affect delayed type hypersensitivity、5th International Investigative Dermatology 2008、2008/5/17、Kyoto, Japan

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新谷洋一 (SHINTANI YOICHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：10336688