

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20K08653
研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎における痒みに関連するサイトカインIL-33の産生調節機構の解明

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of IL-33 in atopic dermatitis

研究代表者
辻 学 (Tsuji, Gaku)

九州大学・大学病院・准教授

研究者番号：20423551
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)：アトピー性皮膚炎の病態は、皮膚バリア機能障害・2型免疫応答・痒みから構成される。表皮細胞由来のIL-33は、これらに密接に関わっており、本研究では、表皮細胞におけるIL-33の産生機構について研究を行った。初年度に化学物質センサーである芳香族炭化水素受容体がIL-33の産生を調節していることを明らかにした。次年度には抗炎症性サイトカインであるIL-37がIL-33の産生を負に調節していることを見出した。最後に、IL-37は、芳香族炭化水素受容体によって調節されていることを示し、芳香族炭化水素受容体がIL-33とIL-37のバランスを介してアトピー性皮膚炎の病態を制御している可能性を提示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で用いたタピナロフという薬剤は、現在、アトピー性皮膚炎の新規薬剤としてPhase 3試験が国内で施行中である。本研究によって、タピナロフがアトピー性皮膚炎に対してどのような機序で効果を発揮するのか、分子生物学的な機序が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The pathogenesis of atopic dermatitis consists of skin barrier dysfunction, type 2 immune response, and pruritis. Keratinocyte-derived IL-33 is closely related to these factors. In this study, we investigated the mechanism of IL-33 production in human keratinocytes. In the first year, we found that the chemical sensor aryl hydrocarbon receptor regulates IL-33 production. In the second year, we found that IL-37, an anti-inflammatory cytokine, negatively regulates IL-33 expression. Finally, we showed that IL-37 was regulated by aryl hydrocarbon receptors and suggested a possibility that aryl hydrocarbon receptor regulates the pathogenesis of atopic dermatitis via the balance between IL-33 and IL-37.

研究分野：皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎 IL-33 IL-37 芳香族炭化水素受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎は、強い痒みを伴う湿疹病変を生じる慢性の炎症性皮膚疾患である。現在、アトピー性皮膚炎の病態は、2型免疫応答、皮膚バリア機能障害、掻痒が複雑に相互作用することによって形成されると考えられている。IL-33の皮内注射を繰り返すモデルや皮膚にIL-33を過剰に発現するマウスモデルではアトピー性皮膚炎に類似した皮膚炎を生じる。また、表皮のIL-33が欠損したマウスでは、MC903によるアトピー性皮膚炎の皮疹は重症化しない。これまでにアトピー性皮膚炎の病変部では、表皮細胞の核に強くIL-33が発現することが確認されている。アトピー性皮膚炎患者の血清中のIL-33の濃度は、健常人、乾癬患者よりも優位に高い。IL-33は、ILC2を刺激し、IL-5・IL-13などの2型サイトカインの産生を誘導する。また、IL-33の刺激を受けたTh2細胞はIL-4・IL-13・IL-31を産生する。IL-4・IL-13は表皮細胞におけるフィラグリン・ロリクリンの発現を低下させ、皮膚バリア機能障害を生じる。さらに、IL-31とIL-33は、痒みを感じる神経を直接刺激することで強い痒痒を生じ、掻破を誘導する。掻破によって細胞死した表皮細胞はIL-33を病変部に分泌し、炎症は悪化する。最近の研究では、IL-33は皮膚バリア機能障害に関与することも明らかになっている。IL-33の刺激によって、フィラグリン・ロリクリンの発現が低下することが示されている。これらのことから、アトピー性皮膚炎の表皮細胞におけるIL-33の産生を抑制することは、アトピー性皮膚炎の治療において極めて重要であると考えられる。

本研究では、表皮細胞におけるIL-33の産生機構について研究を行なった。

2. 研究の目的

表皮細胞におけるIL-33の産生機構を明らかとする。

3. 研究の方法

ヒト正常表皮細胞を、アトピー性皮膚炎の病態形成に重要なサイトカインで刺激し、IL-33の発現について検討した。また、マイクロアレイ・RNA-seqによる網羅的な解析を行い、IL-33の発現を調節する因子の特定を行なった。

4. 研究成果

芳香族炭化水素受容体(Aryl Hydrocarbon Receptor: AHR)は、ダイオキシン類に対する受容体として同定されたが、近年では、ダイオキシン類以外の外因性・内因性の作用物質が明らかにされており、皮膚の恒常性や様々な炎症性皮膚疾患の病態に関与することが示されている。活性化したAHRは細胞質から核内へ移動し、転写因子として遺伝子の発現を調節する。

我々は、大豆抽出ターナルであるグリテールや治療用AHR調節薬(Therapeutic AHR-modulating Agent: TAMA)であるタピナロフといったAHRに作用する物質によってIL-33の産生が抑制されることを報告した。AHRの活性化は、表皮細胞の分化の調節因子であるOVOL1の発現を増加させる。OVOL1はMAPKのリン酸化を負に制御しており、AHR-OVOL1軸の活性化によってIL-33の発現が抑制される。したがって、AHRに作用する物質は、潜在的にIL-33の発現を抑制する可能性がある。また、本研究のIL-4で刺激した表皮細胞の解析においては、JAK阻害薬では、IL-4によるIL-33の発現は抑制されなかった。しかし、ERK阻害薬はIL-4によるIL-33の発現を抑制した。これらのことから、表皮細胞におけるIL-33の発現機構は、JAK-STAT経路よりもMAPKのリン酸化に強く依存する可能性がある。

アレルギー症状を軽快させ、IL-33の産生を抑制する物質は、漢方薬やフラボノイドの報告が数多くあるがその分子機構はまだわからない部分が多い。漢方薬では、小柴胡湯がOVA誘導性の喘息の症状を緩和し、BALFのIL-33の産生を抑制した。小柴胡湯には、Bupleuri Radix、Scutellariae Radix、Ginseng Radixが含まれており、これらはAHRに作用することが明らかとされている。フラボノイドでは、Luteolin、Apigenin、Kaempferol、Hesperidin、Chrysin、NaringeninがIL-33の産生を抑制した報告があり、これらのフラボノイドもAHRに作用することが報告されている。したがって、漢方薬やフラボノイドによるIL-33の産生抑制作用は、AHRによるシグナル伝達経路が関与している可能性がある。

また、本研究は、表皮細胞のIL-33はIL-37によって負に制御されていることが示した。siRNAを用いてIL-37をノックダウンしたヒト表皮細胞のマイクロアレイによる解析では、IL-37のノックダウンによってIL-33のmRNAおよびタンパクレベルが増加した。さらに、IL-37のノックダウンはMAPKのリン酸化を誘導したことから、IL-37のノックダウンによるMAPKの活性化がIL-33の発現を増加に寄与した可能性がある。

皮膚バリア機能の観点では、IL-33は表皮細胞のフィラグリン・ロリクリンを低下させる。IL-37は顆粒層に発現し、フィラグリン・ロリクリン・インボルクリンと共在する。フィラグリン・ロリクリン・インボルクリンの低下は、IL-37の低下を生じることから、IL-33はIL-37を負に制御していると考えられる。これに対し、AHRの活性化は表皮細胞の分化を促進する強力なフィ

ラグリン・ロリクリンの誘導因子である。したがって AHR に作用する物質は、フィラグリニン・ロリクリンの増加によって IL-37 の発現を補強していると考えられる。

さらに、表皮細胞の IL-37 の発現は AHR によって直接的に調節されていることを明らかにした。AHR に作用する物質としてタピナロフ、Galactomyces ferment filtrate (GFF) を用いて表皮細胞を刺激し、IL-37 の発現を解析した。その結果、タピナロフ・GFF は IL-37 の mRNA とタンパクレベルを増加させた。さらに、siRNA を用いて AHR の発現を低下させたところ、タピナロフ・GFF による IL-37 の mRNA とタンパクレベルの誘導は抑制されたこれらのことから、表皮細胞において AHR が IL-37 の発現を直接的に調節する機序が示された。

これまでに IL-37 の発現を誘導する物質の報告は数少ない。*Actinidia arguta* から抽出された植物由来物質である PG102 は、ヒトケラチノサイトにおける IL-37 発現を増加させることが報告されている。*A. arguta* 抽出物には多くのポリフェノールが含まれており、その中でもケルセチン誘導体やケンフェロール誘導体が主成分として確認されている。ケルセチンやケンフェロールは AHR に作用することが示されていることから、PG102 も AHR を介して IL-37 の発現を増加させる可能性が考えられる。また、紫外線照射は皮膚における IL-37 の発現を増加させることが報告されている。皮膚への紫外線照射は、細胞内のトリプトファンを内因性 AHR リガンドである FICZ に構造変化させることから、紫外線照射による IL-37 発現の増加は、AHR 依存的なメカニズムによって媒介されている可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsuda-Taniguchi Tomoyo, Takemura Masaki, Nakahara Takeshi, Hashimoto-Hachiya Akiko, Takai-Yumine Ayako, Furue Masutaka, Tsuji Gaku	4. 巻 10
2. 論文標題 The Antidiabetic Agent Metformin Inhibits IL-23 Production in Murine Bone-Marrow-Derived Dendritic Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 5610 ~ 5610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10235610	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 Tsuji Gaku, Hashimoto-Hachiya Akiko, Yen Vu Hai, Miake Sho, Takemura Masaki, Mitamura Yasutaka, Ito Takamichi, Murata Maho, Furue Masutaka, Nakahara Takeshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Aryl Hydrocarbon Receptor Activation Downregulates IL-33 Expression in Keratinocytes via Ovo-Like 1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 891 ~ 891
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9030891	査読の有無 無
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 Vu Yen Hai, Hashimoto-Hachiya Akiko, Takemura Masaki, Yumine Ayako, Mitamura Yasutaka, Nakahara Takeshi, Furue Masutaka, Tsuji Gaku	4. 巻 21
2. 論文標題 IL-24 Negatively Regulates Keratinocyte Differentiation Induced by Tapinarof, an Aryl Hydrocarbon Receptor Modulator: Implication in the Treatment of Atopic Dermatitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9412 ~ 9412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21249412	査読の有無 無
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 Tsuji Gaku, Hashimoto-Hachiya Akiko, Matsuda-Taniguchi Tomoyo, Takai-Yumine Ayako, Takemura Masaki, Yan Xianghong, Furue Masutaka, Nakahara Takeshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Natural Compounds Tapinarof and Galactomyces Ferment Filtrate Downregulate IL-33 Expression via the AHR/IL-37 Axis in Human Keratinocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 745997 ~ 745997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.745997	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Gaku Tsuji
2. 発表標題 Mechanism and future prospects of IL-4 / 13 in the treatment of atopic dermatitis
3. 学会等名 The 46 th Annual Meeting of The Japanese Society for Investigative Dermatology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------