

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08661

研究課題名(和文) IL-33阻害による褥瘡発症予防に関する研究

研究課題名(英文) Approach to treatment of decubitus ulcer by IL-33 inhibition

研究代表者

小宮根 真弓 (Mayuim, Komine)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：00282632

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)：IL-33K0マウスにおいて褥瘡形成が抑制されたため、IL-33中和抗体を褥瘡の早期治療に使用できないか検討した。IL-33中和抗体およびIL-33受容体であるST2L中和抗体は、部分的にマウスにおける褥瘡形成を抑制したが完全には抑制しなかった。IL-33はサイトカインとして以外に、核内因子としてケラチン関連タンパク発現を抑制している可能性があり、IL-33K0マウスにおける褥瘡形成抑制は、IL-33不在によるケラチン関連タンパク発現亢進も関与している可能性が考えられた。褥瘡の早期治療にIL-33中和抗体を用いることで完全に褥瘡形成を阻害することは難しいと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

褥瘡はすでに形成された潰瘍に対する治療は存在するが、圧力を受けたあとの早期段階での治療は存在しない。早期の褥瘡に対する治療薬の開発ができれば、圧負荷後から潰瘍形成に至る期間に潰瘍形成を抑制する治療が可能となり、臨床的に有意義であると考えたが、今回の検討結果からは、サイトカインとしてのIL-33を抑制するのみでは、褥瘡形成の予防は難しいと考えられた。核内のIL-33まで発現抑制するか、あるいはIL-1などの別のターゲットについても検討する必要があると考えている。

研究成果の概要(英文)：We made decubitus ulcer model utilizing ischemia-reperfusion model in IL-33K0 and WT mice. IL-33K0 mice showed remarkable suppression of ulcer formation compared to WT mice. Thus we tried to utilize neutralization antibody for suppression of decubitus ulcer formation in mice. Anti-IL-33 antibody and anti-ST2L antibody partially suppressed the formation of decubitus ulcer formation in WT mice. IL-33 has been reported to suppress structural proteins, such as filaggrin and keratins. We assumed that IL-33 exerted its effects, not only as cytokine, but also as nuclear protein to suppress keratin-related proteins in our mice model. Above these facts suggested that neutralization of soluble IL-33 cytokine or its receptor may suppress partially decubitus ulcer formation, but may not suppress completely.

研究分野：皮膚科学

キーワード：褥瘡 虚血再灌流 IL-33 核内因子 中和抗体 治療

IL-33 阻害による褥瘡発症予防に関する研究

1. 研究開始当初の背景

褥瘡は多くの寝たきりの高齢者にとって重要な健康上の問題であり、また、医療者・医療施設・医療行政にとっても褥瘡の予防、治療は重大な問題である。

この研究では、圧力が加わってから潰瘍が形成されるまでに数日間を要すること、またその間の治療法が現時点で存在しないことから、圧負荷から潰瘍形成までの期間に行える治療について検討することにした。

これまでの研究成果から、IL-33 ノックアウトマウスにおいて圧負荷後の潰瘍形成が極度に抑制されていたことから、IL-33 中和抗体および IL-33 受容体に対する中和抗体を用いて潰瘍形成を抑制することを試みた。

2. 研究の目的

野生型マウスにおける褥瘡モデルにおいて、IL-33 の阻害 (IL-33 の中和抗体、IL-33 受容体の中和抗体、あるいは IL-33siRNA) が、褥瘡形成抑制するか否か検討する。

3. 研究の方法

IL-33 ノックアウトマウスは共同研究者である中江進先生より供与いただいたものを使用した (ACC. No. CDB0631K)。

8 週齢から 10 週齢の IL-33 ノックアウトマウスと野生型マウス (BALB/cA mice were purchased from CLEA JAPAN) の背部皮膚を円盤状マグネット (1180G、2.69g、NeoMag Co, Ichikawa, Japan) で挟むことで一定の圧力を加え、12 時間後に解除し、潰瘍形成を経時的に観察・計測した。

圧負荷部の皮膚より経時的に皮膚生検を施行し、ホルマリン固定、薄切後、ヘマトキシリン&エオジン染色、免疫組織染色を施行、また皮膚サンプルを RNALater で保存、Total RNA を抽出、逆転写酵素で cDNA とし、Real-time PCR にてサイトカイン、ケモカイン等を定量した。免疫染色に使用した抗体は次のものである。

anti-IL-33 antibody (Nessy-1), F4/80 (BioRAD, MCA497R), CD80 (proteintech, 66406-1-Ig), CD163 (proteintech, 16646-1-AP)。

マウスに IL-33 中和抗体 (2.5µg/mouse, R&D, AF3626, USA)、ST2L 中和抗体 (5µg/mouse, R&D, MAB10041, USA) をそれぞれ腹腔内投与し、上記同様にマグネットによる圧負荷後の潰瘍形成を観察・測定した。

IL-33KO マウス、WT マウスをテープストリッピングで刺激し、2 日後に皮膚サンプルを回収、表皮の肥厚、フィラグリン、ケラチンなどの構造タンパクの発現について検討した。

4. 研究成果

IL-33KO マウスでは WT マウスと比較して潰瘍形成が強く抑制された。

WT マウスに IL-33 中和抗体あるいは IL-33 受容体である ST2L 中和抗体を投与することにより、潰瘍形成が部分的に抑制されたが、完全に抑制することはできなかった。

IL-33KO マウスでは WT と比較してケラチン関連タンパクの発現が強く誘導された。

IL-33KO マウスでは WT マウスと比較してテープストリッピングによる表皮肥厚の程度が強くまた Filaggrin 発現の誘導も高度であった。

(論文投稿中のためデータの表示は控えさせていただきました。)

IL-33 は、種々の TLR 刺激により誘導され、細胞が障害されると細胞外に放出されて Alarmin として免疫系を活性化して生体防御機能に重要な役割を果たしている¹⁾。単純へ

ルペス感染や薬疹においては細胞質に IL-33 が免疫染色にて検出され、また血清中に ELISA で検出され、中毒性表皮壊死症においては早期の血清マーカーになりうることを示した 2) 3)。

圧負荷後の潰瘍形成においても、圧力によって細胞障害が生じるため IL-33 が細胞外に放出されて炎症を惹起することで潰瘍形成が生じると考えた。

これまでの検討で IL-33KO マウスにおいて圧負荷後の潰瘍形成が極度に抑制されたことから、IL-33 中和抗体あるいはその受容体である ST2L 中和抗体で褥瘡形成が抑制できると考えたが、その抑制は部分的であった。

IL-33 は、サイトカインとしての役割以外に、核内タンパクとして他の遺伝子の発現制御に関与していることが知られており、我々のグループでも表皮細胞増殖に関与していることを報告した 4) 。近年、IL-33 がフィラグリン、ケラチン 1、ケラチン 10 の発現を抑制しているとの報告がなされた 5) 。

我々の褥瘡モデルにおいても、IL-33 がサイトカインとして働く以外に、核内タンパクとしてフィラグリンやケラチン、ケラチン関連タンパクの発現を抑制しており、IL-33 が存在しないことでこれらの分子の発現が誘導されることにより圧負荷による皮膚の抵抗性が増強している可能性があると考えられた。

これらのことから、圧負荷後から潰瘍形成に至る時期の早期褥瘡の治療としては、サイトカインとしての IL-33 を抑制するのみでは不十分である可能性が考えられた。

IL-33 の遺伝子発現そのものを抑制するか、あるいは IL-1 などその他の分子を抑制することが次のステップとしては重要と考えた。

上記の主な内容は、現在英文論文に投稿中である。

褥瘡の初期治療に IL-33 の阻害をするという内容で、特許申請中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Boonpethkaew Suphagan, Meehansan Jitlada, Jumlongpim Onjira, Tangtanatakul Pattarin, Soonthornchai Wipasiri, Wongpiyabovorn Jongkonnee, Vipnanurat Ratchanee, Komine Mayumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Transcriptomic Profiling of Peripheral Edge of Lesions to Elucidate the Pathogenesis of Psoriasis Vulgaris	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4983 ~ 4983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23094983	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 該当する
1. 著者名 Vacharanukrauh Pinyadapat, Meehansan Jitlada, Tangtanatakul Pattarin, Soonthornchai Wipasiri, Wongpiyabovorn Jongkonnee, Serirat Onsiri, Komine Mayumi	4. 巻 Volume 11
2. 論文標題 High-Throughput RNA Sequencing Reveals the Effect of NB-UVB Phototherapy on Major Inflammatory Molecules of Lesional Psoriasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Psoriasis: Targets and Therapy	6. 最初と最後の頁 133 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/PTT.S335913	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 該当する
1. 著者名 Tsuda Hidetoshi, Tominaga Shin-ichi, Ohtsuki Mamitaro, Komine Mayumi	4. 巻 105
2. 論文標題 Nuclear IL-33 regulates cytokinesis and cell motility in normal human epidermal keratinocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 113 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2022.01.006	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 Tago Kenji, Ohta Satoshi, Aoki-Ohmura Chihiro, Funakoshi-Tago Megumi, Sashikawa Miho, Matsui Takeshi, Miyamoto Yuki, Wada Taeko, Oshio Tomoyuki, Komine Mayumi, Matsugi Jitsuhiro, Furukawa Yusuke, Ohtsuki Mamitaro, Yamauchi Junji, Yanagisawa Ken	4. 巻 11
2. 論文標題 K15 promoter-driven enforced expression of NKIRAS exhibits tumor suppressive activity against the development of DMBA/TPA-induced skin tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20658
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-00200-1	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 Karakawa Masaru, Kishimoto Megumi, Ohtsuki Mamitaro, Komine Mayumi	4. 巻 48
2. 論文標題 Calcipotriol induces the production of CTACK/CCL27, one of the potential suppressive factors in psoriasis inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1949 ~ 1950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16152	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 Sashikawa Miho, Tsuda Hidetoshi, Komine Mayumi, Ohtsuki Mamitaro	4. 巻 48
2. 論文標題 Novel missense mutation c.539A>G; p.Glu180Gly in keratin 1 causing epidermolytic ichthyosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16142	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 小宮根真弓、金 美娟、大塩智之、唐川 大、岸本恵美、津田英利、富永眞一、大槻マミ太郎	4. 巻 41
2. 論文標題 核内に存在するサイトカイン	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 1078-1081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 小宮根真弓、木村未歩、岸本恵美、Jitlada Meephansan、津田英利、大槻マミ太郎	4. 巻 43
2. 論文標題 乾癬局面形成の経時的変化：空間的遺伝子発現から経時的遺伝子発現の変化を知る	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 44-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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14件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 Effect of IL-33 on Ischemia-Reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 IL-33 contributes to skin ulcer formation in ischemia-reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 IL-33 deficiency protects skin from ulcer formation in ischemia-reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 European Society for Dermatological Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金 美娟、小宮根 真弓、大槻マミ太郎
2. 発表標題 褥瘡の病態におけるIL-33の役割及び治療への応用についての研究
3. 学会等名 日本炎症再生医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金 美娟
2. 発表標題 褥瘡形成にかかわる IL-33の役割
3. 学会等名 日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tuba M. ANSARY ¹ , MD Razib Hossain ¹ , Mayumi Komine ¹ , Mamitaro Ohtsuki ¹
2. 発表標題 Induction of Type XVII collagen decreases cellular senescence in Human hTert/KER-CT keratinocytes
3. 学会等名 Japanese Society for Investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 MD Razib Hossain, Tuba Ansary, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 Skin barrier function impairment in IL-33KO mice
3. 学会等名 Japanese Society for Investigative dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 未歩、小宮根真弓
2. 発表標題 Epidermolysis bullosa simplex with mottled pigmentationの親子例
3. 学会等名 第3回 日本白斑学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 未歩、宮内ひとみ、小宮根真弓、大槻マミ太郎
2. 発表標題 長島型掌蹠角化症の2例
3. 学会等名 角化症研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 Effect of IL-33 on Ischemia-Reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 IL-33 contributes to skin ulcer formation in ischemia-reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jin Meijuan, Mayumi Komine, Mamitaro Ohtsuki
2. 発表標題 IL-33 deficiency protects skin from ulcer formation in ischemia-reperfusion-induced decubitus mouse model
3. 学会等名 European Society for Dermatological Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金 美娟、小宮根 真弓、大槻マミ太郎
2. 発表標題 褥瘡の病態におけるIL-33の役割及び治療への応用についての研究
3. 学会等名 日本炎症再生医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金 美娟
2. 発表標題 褥瘡形成にかかわるIL-33の役割
3. 学会等名 日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 褥瘡治療剤、褥瘡治療方法、及び褥瘡予防方法	発明者 小宮根 真弓	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-119951	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 褥瘡治療剤、褥瘡治療方法、及び褥瘡予防方法	発明者 小宮根	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-119951	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------