

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17332

研究課題名(和文)炎症性皮膚疾患と骨との免疫学的なクロストークの解析

研究課題名(英文)Analysis of immunological crosstalk between inflammatory skin diseases and bone

研究代表者

佐々木 奈津子 (Saito-Sasaki, Natsuko)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：70745405

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性皮膚疾患として、慢性に経過する尋常性乾癬についてまずは行うこととした。TLRレセプターを介して局所免疫を活性化させるイミキモドは日光角化症や尖圭コンジローマの治療薬としても使われるが、その反復塗布によって尋常性乾癬様の皮疹を発症させることが知られている。我々はイミキモドを塗布して作成した乾癬モデルマウスを用いて、その骨の解析を行うこととした。イミキモドはマウスの剃毛処理を行なったマウスの背中に週3回4週間にわたって塗布をおこなった。マウスの体重測定を週1回行い、骨密度の測定をマイクロCTを用いて行った。体重及び骨密度は、コントロールマウスと比較して、優位に低下が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究では、皮膚病は生活習慣病などの全身性の疾患と繋がりがあることがこれまでに多くの研究で示されてきた。全身にひろがる炎症性皮膚疾患は、慢性炎症を惹起し、骨密度までも低下させることは、今後、高齢化がすすむ社会においてより大きな問題となる可能性がある。皮膚の炎症を適切に制御し、転倒などによる骨折のリスクを下げ、高齢化社会においてもより健康にすごせるよう、皮膚科医にもその重責があることが今回の研究で示されたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Imiquimod, which activates local immunity via TLR receptors, is used as a treatment for solar keratosis and condyloma acuminatum, but its repeated application is known to induce a psoriasis-like rash. Therefore, we decided to analyze the bones of a mouse model of psoriasis created by applying imiquimod.

Imiquimod was applied to the backs of shaved mice three times a week for four weeks. Mice were weighed weekly and bone density was measured using micro-CT. Body weight and bone density were predominantly decreased compared to the control mice.

研究分野：皮膚科

キーワード：乾癬 骨粗鬆症

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症性疾患である関節リウマチ、炎症性腸疾患、SLEなどで骨密度が低下することがこれまでに報告されている。アトピー性皮膚炎では、I.M.Haackら(1)によって、125名の中等症～重症の成人アトピー性皮膚炎患者の約3分の1に骨塩定量の低下があることが報告され、Garg NKら(2)の米国における疫学的調査でもアトピー性皮膚炎と骨密度の低下の関連性が示唆されている。乾癬においても、疫学調査での骨密度の低下の報告がある(3)。

しかし、炎症性皮膚疾患の悪化は、喫煙や飲酒などの生活習慣と関連していることや、皮膚症状によって引きこもりがちになり運動習慣がなくなるなどの側面から骨密度が低下している可能性も指摘されており、直接的な関連性を証明している論文はない。炎症と関連する骨粗鬆症ではTNF- α 、IL-17、IL-6、INF- γ 、RANK-L、OPGなどが破骨細胞を活性化している(4)ことが知られており、炎症性皮膚疾患においてもこれらのサイトカインの上昇が報告されているため、モデルマウスと患者血液で関連性を示すことができると考える。

今回、モデルマウスを用いて免疫学的な機序について詳細に検討を行うことで、炎症性皮膚疾患と骨とが免疫学的にどのようなクロストークがあるのかを検証できることとなり、皮膚の治療ゴールの設定や骨密度測定 of 早期の開始など、今後の治療において応用される可能性が高い研究であると考えられる。

1) Haack IM, Hamdy NA, Timmer-de Mik L, Lentjes EG, Verhaar HJ, Knol MJ, de Bruin-Weller MS, Bruijnzeel-Koomen CA. Low bone mineral density in adult patients with moderate to severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2009;161(6):1248-1254.

2) van Velsen SG, Knol MJ, van Eijk RL, de Vroede MA, de Wit TC, Lam MG, Haack IM, de Bruin-Weller MS, Bruijnzeel-Koomen CA, Pasmans SG. Bone mineral density in children with moderate to severe atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(5):824-831.

3) Shaheen MS, Silverberg JI. Atopic dermatitis is associated with osteoporosis and

osteopenia in older adults. J Am Acad Dermatol. 2019;80(2):550-551.

4) Wu CY, Lu YY, Lu CC, Su YF, Tsai TH, Wu CH. Osteoporosis in adult patients with atopic dermatitis: A nationwide population-based study. PLoS One. 2017;12(2):e0171667.

2 . 研究の目的

本研究の目的:皮膚と骨との免疫を介したクロストークを明らかにする。学術的独自性と創 性: これまでに、アトピー性皮膚炎や乾癬において、骨密度の低下や骨 粗鬆症の発症リスクが高くなるという疫学調査の報告がなされている¹⁾。そうした背景から、「皮膚と骨との間にクロストークがあるのではないか?」と考えられた。その疑問を明らかにするため、申請者の得意分野である免疫学的解析を用いて、その関係性を明らかにしようと考えている。現在までに、皮膚疾患のモデルマウスなどを用いた骨密度の低下を検証した検討はなく、免疫応答について詳細に検討を行った報告はない。モデルマウスを用いて検討することで、皮膚の重症度と骨密度の低下が相関するか、治療によってそれが改善するか、免疫学的な機序はどうかなどについて詳細に検討することができる。このメカニズムを明らかにすることで、臨床の現場においても、炎症性皮膚疾患の治療における骨疾患へのアプローチを早期に行うことで骨粗鬆症の発症を予防することができ、今後増大する医療費の問題 点についても、寄与することが出来るのではないかと考えらえる。

3 . 研究の方法

8 ~ 11 週齢の雄マウスに、イミキモドクリーム (5%) (持田製薬, 東京, 日本) またはワセリン 62.5 mg を隔日に背部皮膚に局所投与し, 12 週間経過させた。

左大腿骨遠位端骨幹を 0, 4, 8, 12 週目に in vivo μ CT 撮影 (CosmoScan GX) (90 kVp、88 μ A、積分時間 142.86 ms、再構成後の分解能 $18 \times 18 \times 18 \mu\text{m}^3$) により解析するとともに、BMD 測定ソフトウェア (BoneAnalysis) により各椎体の海綿体と皮質を含む総 BMD を分析した。

大腿骨遠位端骨幹の海綿骨における骨微細構造パラメータは, Analyze 12.0 software

(AnalyzeDirect, Inc., KS, USA) を用いて評価し、海綿骨量 (BV/TV : %) として示した。

4 . 研究成果

最初に我々の仮説を検証するために、イミキモドクリーム塗布によって乾癬様皮疹を生じるモデルマウスにて骨への影響を評価した。マイクロ CT を用いた大腿骨の海綿骨イメージング評価を実施すると、イミキモドクリーム塗布により骨密度の低下を認めた (図 1)。また、大腿骨遠位部の海綿骨の微細構造パラメータについては、IMQ 群の BV/TV の値は Control 群に比べ有意に低かった。したがって、イミキモドクリーム塗布によって生じた乾癬様皮膚炎を発症させたことにより、骨密度の低下が生じることが確認できた。

次に、イミキモドが刺激となって生じる影響が要因として推察された為、骨粗鬆症を増悪するファクターが産生されるのではないかと考え、イミキモドを抗原提示細胞に添加する事により、その影響を qPCR にて検討した。in vitro にて TLR-7 アゴニストを THP-1 細胞に添加する事で、RANKL の発現が亢進することが確認できた。一方で、RANK ならびに TRAP の発現は TLR7 アゴニスト添加による上昇は確認できなかった。すなわち、TLR-7 を介したシグナルにより、RANKL の発現が亢進し、骨粗鬆症が促進することが推察された。

最後に、乾癬患者における RANKL の発現を RNA シークエンス解析にて検討した。乾癬の病変がある部位では RANKL の発現が健常皮膚もしくは乾癬の無皮疹部と比較して優位に亢進していた。またマウスにおけるイミキモドクリーム塗布による乾癬様皮膚炎モデルマウスの皮膚における RANKL の発現を検討すると表皮に優位に RANKL の発現が亢進していることが確認できた。以上から、乾癬の皮膚炎に伴い産生される RANKL が骨粗鬆症の増悪に寄与している可能性が示唆された。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------