

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860962

研究課題名(和文)乾癬の病態におけるCaveolinの役割

研究課題名(英文)The role of caveolin-1 in the pathogenesis of psoriasis

研究代表者

山口 由衣(YAMAGUCHI, Yukie)

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：60585264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：乾癬の病態では免疫細胞と表皮細胞の活性化クロストークが重要である。細胞膜蛋白のカベオリン-1(Cav-1)は、脂質代謝や物質輸送に関するほか各種シグナル因子に作用し抑制的に制御する。乾癬患者の表皮細胞では、Cav-1発現が有意に低下していた。Cav-1発現を低下させた表皮細胞ではSTAT3やJAK2のリン酸化が有意に増強し、表皮細胞過増殖のほか、様々なケモカイン産生を有意に増強させた。さらに、イミキモド誘発性の乾癬モデルマウスを用いて、Cav-1の機能部位を含むCSDペプチドを皮下投与すると、乾癬様皮疹は抑制された。乾癬におけるCav-1の低下が乾癬の慢性病態を修飾することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Caveolin-1 (CAV-1) has been implicated in the regulation of signal transduction. Whether CAV-1 is involved in psoriasis is unknown. We examined CAV-1 expression in the psoriatic epidermis and investigated its role in the pathogenesis of psoriasis. CAV-1 was markedly reduced in the epidermis of psoriasis patients. CAV-1 silencing in keratinocytes revealed significant activation of STAT3, leading to increased expression of keratin 16 and several cytokine/chemokines. In addition, psoriasis-related cytokines decreased CAV-1 expression in keratinocytes. Finally, administration of CAV-1 scaffolding domain peptide in a murine model of psoriasis-like model induced by imiquimod improved the skin phenotype and reduced epidermal thickness and infiltrating cell counts. Furthermore, expression of several cytokines was significantly suppressed by this treatment. Thus, our study indicated that CAV-1 participates in the pathogenesis of psoriasis by regulating the STAT3 pathway and cytokine networks.

研究分野：医歯薬学

キーワード：乾癬 カベオリン STAT3



## 1. 研究開始当初の背景

乾癬は表皮細胞の過増殖を特徴とする慢性的炎症性皮膚疾患であり、樹状細胞(DC)とTh17細胞を主体とした炎症細胞と表皮細胞の活性化クロストークがその病態の主眼となる。乾癬の典型的な皮疹は、境界明瞭な局面を呈することが多く、一度出現するとなかなか消えづらい。明らかな trigger は不明であるが、活性化した DC や Th1, Th17 細胞が放出する TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-22 などのサイトカインによって刺激された表皮細胞が STAT3 を介して活性化、増殖する。さらに、表皮細胞から産生される様々なサイトカイン、ケモカインによって更なる免疫細胞の浸潤が引き起こされることが慢性化メカニズムとして知られている。

Caveolin-1(CAV-1)は、細胞膜にフラスコ状に存在する Caveolae を裏打ちする約 22kDa のタンパクである。CAV-1 は、脂質代謝や物質輸送に関与するほか、各種シグナル伝達因子に直接的に作用し抑制的に制御することが分かっており、悪性腫瘍や線維化疾患などの各種疾患で CAV-1 の発現異常が病態に関与する可能性が示唆されている。今回、我々は、乾癬の慢性病態における Cav-1 に着目した。

## 2. 研究の目的

本研究では、乾癬の慢性病態において、それを維持、増悪するシステムにカベオラを介するシグナルが関与すると仮説をたてた。Caveolae 構成タンパクに着目し、乾癬の病態形成・表皮過増殖状態の維持に関与する Caveolin の機能解析、およびそれを標的とした新規治療法の開発につながる基盤の構築を目標とする。

## 3. 研究の方法

(1) 乾癬皮膚組織における CAV-1 の発現検討。乾癬患者皮疹部組織片、皮疹部表皮における CAV-1 発現を免疫染色法、PCR、免疫プロット法で評価する。さらに、イミキモド誘発乾癬様モデルマウスを作成し、同じく表皮細胞での CAV-1 発現を検討する。

(2) ヒト培養表皮細胞を用いた in vitro 解析 CAV-1 と STAT3 が共在し、結合するかを、蛍光免疫組織や IP-WB 法で検討する。さらに、CAV-1 発現を RNA 干渉法でノックダウンした細胞を作成し、乾癬様炎症において JAK-STAT3 系に及ぼす影響を WB やルシフェラーゼアッセイで評価する。また、これら細胞における増殖マーカー、ケモカイン、サイトカイン発現を検討する。

(3) イミキモド誘発乾癬様モデルマウスを用いた解析。

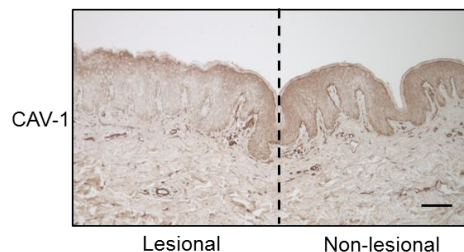
イミキモドクリームを7日間外用することで作成する乾癬様皮膚炎マウスを作成する。その際、CAV-1 の機能性部位である Scaffolding domain を含む CSD ペプチドとコントロールペプチドをそれぞれ毎日7日間皮下注射し、皮膚炎の程度やサイトカイン発現を検討する。

## 4. 研究成果

### 研究成果

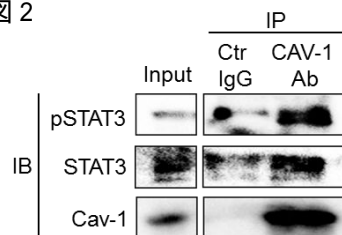
(1) 乾癬皮膚組織における CAV-1 の発現検討。乾癬患者皮疹部では、健常人に比較して有意に CAV-1 発現が減少していた(図1)。一方で無疹部では発現は正常であった。さらに、イミキモドによる乾癬様モデルマウスの表皮細胞でもヒトと同様に CAV-1 発現が低下していた。

図1



(2) ヒト培養表皮細胞を用いた in vitro 解析 乾癬皮疹部では有意に CAV-1 発現が低下していることから、それにより、乾癬に関わるシグナル活性に影響する可能性を考えた。そのため、乾癬表皮細胞で活性化している STAT3 分子が CAV-1 と相互作用するかを検討した。IP-WB の解析では CAV-1 と STAT3 が結合することが分かった(図2)。

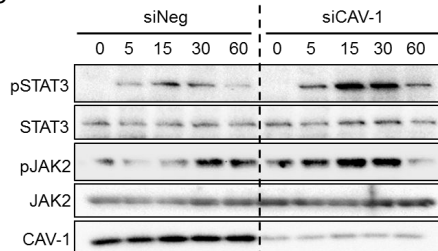
図2



さらに、ヒト表皮細胞において RNA 干渉法を用いて CAV-1 の発現を低下させ、乾癬関連サイトカインである IL-22 刺激によって誘導される STAT3 活性を評価した。図3に示すように、CAV-1 発現が低下した細胞では、有意に JAK2-STAT3 のリン酸化が増強した。

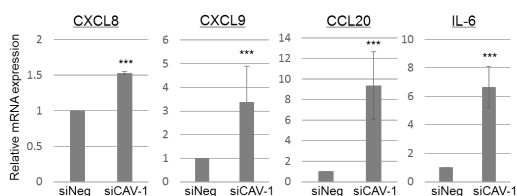


図 3



この CAV-1 発現低下による STAT3 活性の増強は、ルシフェラーゼアッセイでも確認した。さらに、CAV-1 発現を低下させた細胞における細胞増殖マーカーは有意に亢進しており、さらに、様々なサイトカイン、ケモカインの発現も増強していた (図 4)。

図 4

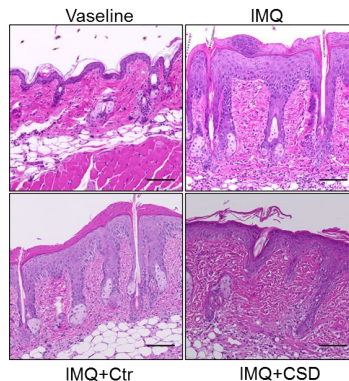
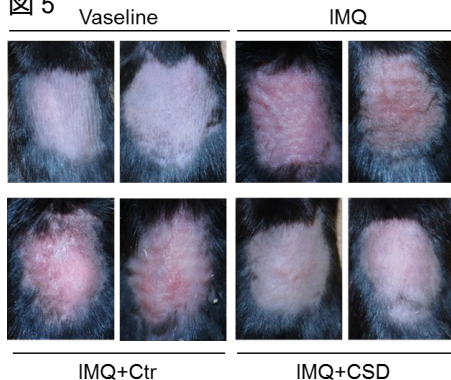


よって、乾癬皮疹部では CAV-1 発現が低下していることで、さらなる JAK-STAT の活性化を通じて種々のケモカイン、サイトカインの産生につながる事が分かった。さらに興味深いことに、乾癬関連サイトカイン (TNF や IL-17 など) は、表皮細胞に作用して CAV-1 発現を低下させる作用をもつことが分かった。

(3) イミキモド誘発乾癬様モデルマウスを用いた解析。

次にイミキモド外用による乾癬様モデルマウスを用いて、CAV-1 の機能ペプチド CSD を投与することで皮膚炎の抑制効果があるかを検討した。図 5 に示すように、CSD ペプチドを投与した群では、コントロール群に比較して有意に皮疹が抑制された。

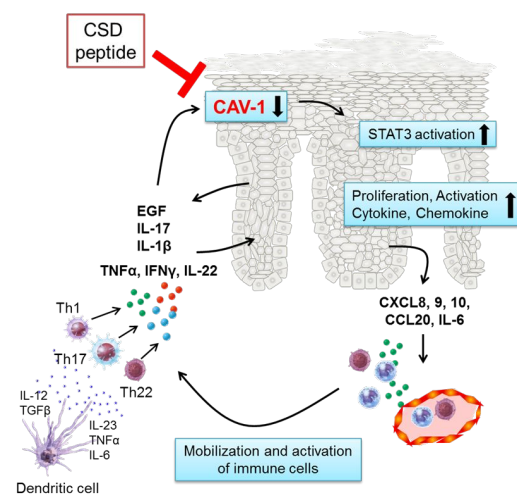
図 5



また、CSD ペプチド群では、真皮における IL-17 などのサイトカイン発現も抑制された。

これらの結果より、乾癬炎症そのものは、表皮細胞の CAV-1 発現を低下させ、そこで更なる JAK-STAT 活性の増強を介して乾癬炎症を助長させることが分かった。さらに、CSD ペプチドを用いて CAV-1 発現を制御することは乾癬の治療標的になる可能性があると考えられた (図 6)。

図 6



## 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 1 件)

Yamaguchi Y, Watanabe Y, Watanabe T, Komitsu N, Aihara M. Decreased Expression of Caveolin-1 Contributes to the Pathogenesis of Psoriasisform Dermatitis in Mice. J Invest Dermatol. 査読有. 2015 Nov; 135(11): 2764-74. doi: 10.1038/jid.2015.249.



〔学会発表〕(計4件)

Watanabe Y, Yamaguchi Y. Leptin may enhance IL-6 production via decreased expression of caveolin-1 in human keratinocytes. The 40th Annual meeting of the JSID. 2015.12.11-13. Okayama Convention Center, Okayama, Japan.

Watanabe Y, Yamaguchi Y. Leptin induces secretion of IL-6 by human keratinocytes via decreased expression of caveolin-1. The 45th ESDR meeting 2015.9.9-12, the Postillion Convention Centre WTC, Rotterdam, Netherlands.

Yamaguchi Y. Caveolin-1 reduction induced by psoriasis-related cytokines enhances psoriatic pathogenic inflammation. The 39th Annual meeting of the JSID. 2014.12.12-14, Hotel Hankyu Expopark, Osaka, Japan.

**山口由衣**。乾癬表皮細胞における Caveolin-1 の発現低下はSTAT3リン酸化を増強する。第29回日本乾癬学会学術大会 2014.9.19-20, 高知市文化プラザ かるぽーと, 高知。

〔その他〕

Psoriasis vol.36  
Promising Leader's research

6. 研究組織

(1)研究代表者

山口 由衣 (YAMAGUCHI, Yukie)  
横浜市立大学・医学部・講師  
研究者番号: 60585264