

令和元年8月30日現在

機関番号：33905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08289

研究課題名(和文) IL-20サブファミリーのアレルギー疾患における役割と治療標的としての可能性

研究課題名(英文) Role of IL-20 subfamily in allergic diseases

研究代表者

水谷 暢明 (Mizutani, Nobuaki)

金城学院大学・薬学部・教授

研究者番号：90340447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：【目的】アトピー性皮膚炎は、ダニ抗原(Der f)などに繰り返し曝露されることにより増悪と寛解を繰り返す皮膚の慢性炎症性疾患である。本研究では、IL-20サブファミリーの1つであるIL-22がDer fによって誘導される皮膚炎症状においてどのような役割を果たしているか検討した。【方法】BALB/cマウスの耳にDer fを週に3回、合計9回塗布することで皮膚炎症状を誘導した。【結果】抗IL-22抗体の投与により、耳の肥厚は有意な抑制が観察された。【結論】IL-22はダニ抗原で誘導される皮膚炎症状において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎は、ダニ抗原などに繰り返し曝露されることにより増悪と寛解を繰り返す皮膚の慢性炎症性疾患であり、発症機序の解明ならびに新規治療薬の開発が望まれている。本研究により、免疫系と上皮細胞間をつなぐ重要なサイトカインであるIL-20サブファミリーの1つであるIL-22がアトピー性皮膚炎の発症に関与していることをマウス病態モデルを用いて明らかにした。このことから、IL-22がアトピー性皮膚炎の新規治療薬開発ターゲットになり得る可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disease. In this study, we examined the role of IL-22 in the antigen-induced skin lesions in mice. BALB/c mice were repeatedly challenged with Dermatophagoides farinae (Der f) applied to the right ear nine times. Treatment with anti-IL-22 mAb inhibited the development of Der f-induced ear swelling. Furthermore, recombinant IL-22 enhanced the development of Der f-induced ear swelling. Collectively, we revealed that IL-22 is a key contributor to the development of Der f-induced skin lesions.

研究分野：免疫・アレルギー

キーワード：IL-22 ダニ 皮膚炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IL-20 サブファミリーは、IL-19、IL-20、IL-22、IL-24 および IL-26 で構成されており、主として Th2、Th17、Type 3 innate lymphoid cell (ILC3)、CD8⁺細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞、マクロファージなどの免疫細胞から産生される。また、IL-20 サブファミリーの受容体の発現は肺、皮膚、腸などといった外界に接する組織に観察され、これらの組織の上皮細胞やケラチノサイトに強く発現し免疫細胞における発現は認められないことが知られている()。これらのことから、IL-20 サブファミリーは免疫系と上皮細胞間をつなぐ重要なサイトカインである可能性が推察される。実際の疾患において、IL-20 サブファミリーは炎症性腸疾患、関節リウマチ、癌、メタボリックシンドロームなどに関与している可能性が報告されている()。

アレルギー疾患の発症機構を明らかにするために、様々な病態モデルが使用されている。その中で、抗原(卵白アルブミン、OVA)特異的 IgE モノクローナル抗体(mAb)により受動感作したマウスに、抗原を繰り返し気管内に投与もしくは皮膚に塗布することで、慢性的な症状を示すアレルギー性気管支喘息()、もしくはアトピー性皮膚炎モデルがある()。喘息モデルを用いた解析結果により、遅発性喘息反応ならびに気道過敏性亢進といった症状発現には1) IL-17A(Th17 細胞より産生)による好中球浸潤、2) 上皮細胞およびマクロファージから産生される IL-33 による好中球浸潤、さらには3) IL-17A による IL-33 の CXCL1 産生の増強を介した好中球浸潤が関与していることが報告されている。また、皮膚炎モデルでは、表皮細胞より産生される thymic stromal lymphopoietin (TSLP)により誘導される IL-17A(Th17 および $\gamma\delta$ T 細胞より産生)が好中球ならびに肥満細胞浸潤を介して皮膚炎症状を引き起こすことが明らかにされている。これらのことから、IgE を起点として誘導されるアレルギー性気管支喘息ならびにアトピー性皮膚炎は、様々なサイトカインや細胞などが複雑に絡み合うことで引き起こされ、そのメカニズムは IL-17A が関与しているなど共通したメカニズムも観察される。

2. 研究の目的

上記で述べた IL-20 サブファミリーの作用機構とアレルギー性気管支喘息およびアトピー性皮膚炎の発症機構から、IL-20 サブファミリーがアレルギー疾患の発症に関与している可能性が推察される。例えば、1) 肺や皮膚に IL-20 サブファミリーの受容体の発現が多いこと、2) IL-33 や TSLP の産生細胞は IL-20 サブファミリーの受容体の発現が認められる肺の上皮細胞や皮膚の表皮細胞であること、さらには3) IL-20 サブファミリーの産生細胞はアレルギー発症に関与している Th2、Th17、マクロファージなどであることなどが挙げられる。これらのことから、アレルギー疾患の発症機構に IL-20 サブファミリーがどのように関与しているかを検討することは意義深いと考えられる。

3. 研究の方法

(1) ダニ抗原(Der f)による皮膚炎モデルの作製ならびに解析方法

ダニ抗原(Der f)による皮膚炎モデルの作製では、days 0、1、2、7、8、9、14、15 および 16 に、アトピー性皮膚炎の抗原であるダニ抗原(Der f)をマウスの右耳に塗布した(Der f 群)。また、これらを塗布する1時間前に、皮膚のバリア機能を破壊する目的で1%SDSを塗布した。抗原塗布後24時間に右耳の厚さを測定し、変化を観察した。さらに、病理標本作製し、H&E 染色により表皮の肥厚の程度ならびにトルイジンブルー染色により肥満細胞数を評価した。

薬物投与においては、上記皮膚炎モデルを用いて、抗 IL-22 抗体(150 mg/mouse)は days 2 および 9 に腹腔内投与した。また、リコンビナント IL-22(5 mg/mouse)は day 0 に腹腔内投与した。

サイトカインの測定では、上記皮膚炎モデルの day 18 に血清ならびに皮膚ホモジネート中の IL-22 を ELISA キットを用いて測定した。なお、抗 CD8 抗体により IL-22 の産生が抑制されるか否かを検討するため、抗 CD8 抗体は days 2、7 および 8 に 150 mg/mouse で腹腔内投与した。

CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞数の変化は、上記皮膚炎モデルの day 18 にリンパ節を採取し、フローサイトメーターを用いて CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞を測定した。

4. 研究成果

(1) ダニ抗原による皮膚炎モデルにおける IL-22 の関与

上記のことから、実際にアレルギー疾患の発症に IL-20 サブファミリーである IL-22 が関与しているか否かを検討した。図 1 に示すように、ダニ抗原をマウスの耳介に繰り返し塗布すると PBS 塗布に比較して明らかな耳の肥厚が観察される本病態モデルを用いて、抗 IL-22 抗体の

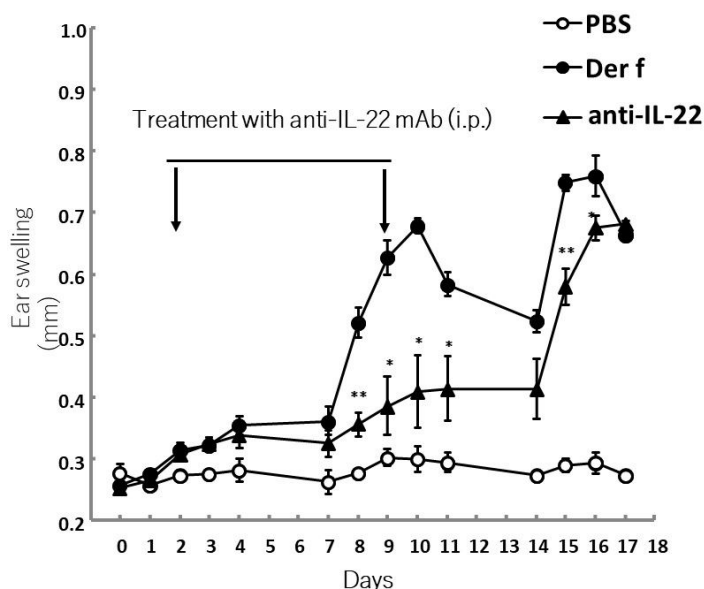


図 1 ダニ抗原 (Der f) による皮膚炎症状に対する抗IL-22抗体の効果

効果を検討すると、耳の肥厚が有意に抑制された (図 1)。この結果は、IL-22 がダニ抗原による皮膚炎症状の発症に重要な役割を果たしている可能性を示唆するものである。

これまでに、抗 CD8 抗体が皮膚炎症状を抑制することを報告しており、CD8 陽性細胞が IL-22 の産生細胞が否かを検討した。抗 CD8 抗体を本モデルに投与することで、血清中ならび皮膚組織中の IL-22 の産生は抑制されなかった (図 2)。このことより、IL-22 の産生細胞は CD8 陽性細胞以外である可能性が示唆された。

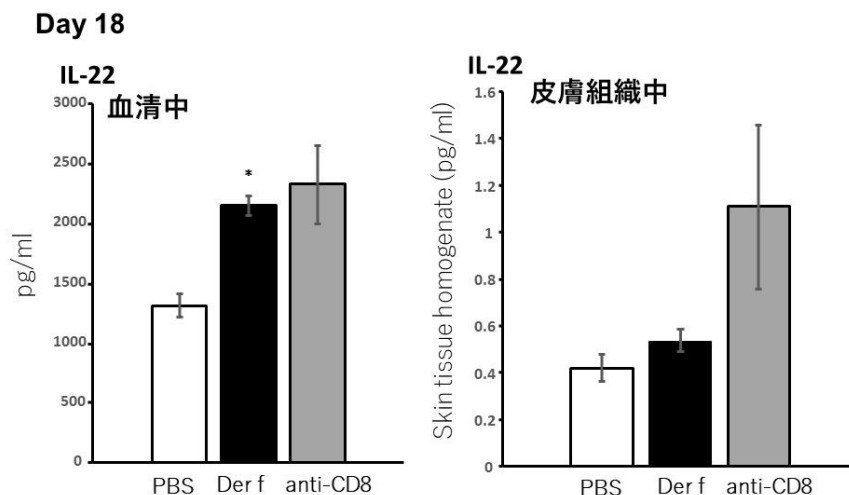


図 2 血清中および皮膚組織中のIL-22産生に対する抗CD8抗体の効果

一方、リコンビナント IL-22 がダニ抗原塗布による耳の肥厚に対してどのような影響を及ぼすかについて検討した。図 3 に示すように、リコンビナント IL-22 をダニ抗原塗布開始前に腹腔内投与することにより耳の肥厚の増悪化が観察された。この結果より、IL-22 はダニ抗原による皮膚炎症状の増悪化に関与することが示唆され、IL-22 の産生を引き起こすような疾患がアトピー性皮膚炎の病態の根底に存在している場合に皮膚炎症状は増悪化する可能性が考えられた。また、リコンビナント IL-22 により CD8 陽性 T 細胞の増加が認められることより、IL-22 は CD8 陽性 T 細胞を誘導することで皮膚炎症状を引き起こしている可能性が示唆された (図 4)。

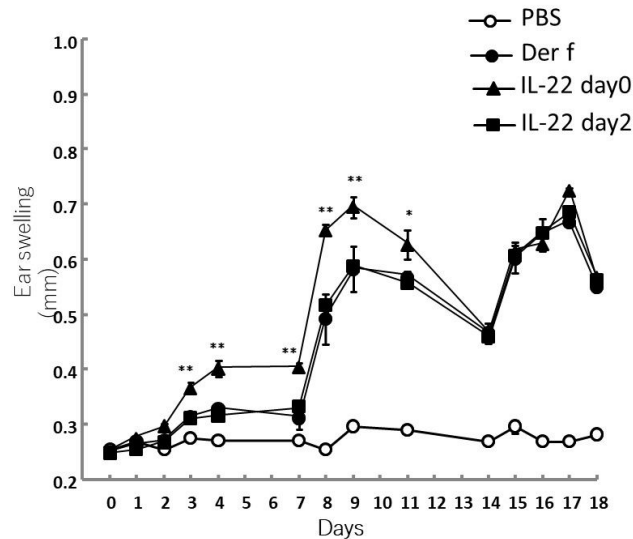


図3 ダニ抗原 (Der f) による皮膚炎症状に対するリコンビナントIL-22の効果

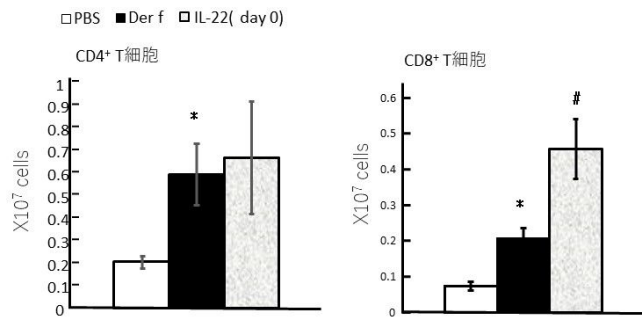


図4 IL-22のダニ抗原 (Der f) により誘導されるCD4+およびCD8+ T細胞の増加に及ぼす影響 (day 9にリンパ節を採取)

以上のことから、免疫系と上皮細胞間をつなぐ重要なサイトカインであると考えられているIL-20 サブファミリーは、他の免疫細胞やサイトカインと複雑なネットワークを形成しながらアレルギー疾患の発症に関与している可能性が推察され、とくに IL-22 は今後アレルギー疾患の治療標的となり得る可能性が示唆された。

< 引用文献 >

Rutz et al. The IL-20 subfamily of cytokines--from host defence to tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 2014 Dec;14(12):783-95.

Mizutani et al. Complement C3a regulates late asthmatic response and airway hyperresponsiveness in mice. *J Immunol.* 2009 Sep 15;183(6):4039-46.

Mizutani et al. Establishment and characterization of a murine model for allergic asthma using allergen-specific IgE monoclonal antibody to study pathological roles of IgE. *Immunol Lett.* 2012 Jan 30;141(2):235-45.

Mizutani et al. Thymic stromal lymphopoietin-induced interleukin-17A is involved in the development of IgE-mediated atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Immunology.* 2015 Dec;146(4):568-81.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

Mizutani N, Nabe T, Yoshino S. Topical ocular treatment with monoclonal antibody Fab fragments targeting Japanese cedar pollen Cry j 1 inhibits Japanese cedar pollen-induced allergic

conjunctivitis in mice. Eur J Pharmacol. 2017 Mar 5;798:105-112.

Matsuda M, Doi K, Tsutsumi T, Fujii S, Kishima M, Nishimura K, Kuroda I, Tanahashi Y, Yuasa R, Kinjo T, Kuramoto N, Mizutani N, Nabe T. Regulation of allergic airway inflammation by adoptive transfer of CD4₊ T cells preferentially producing IL-10. Eur J Pharmacol. 2017 Oct 5;812:38-47.

水谷暢明 免疫アレルギー領域における指定難病 アレルギー疾患における IL-20 サブファミリーの役割 アレルギーの臨床 2018年 8月 49 - 51

〔学会発表〕(計5件)

水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸。ダニ抗原により誘導されるアトピー性皮膚炎様症状における IL-17A の役割 第129回日本薬理学会近畿部会 広島 2016/6

水谷暢明、奈邊 健、吉野 伸。ダニ抗原により誘導される皮膚炎症状に対する抗 CD25 抗体の効果 第137回 薬学会 仙台 2017/3

水谷暢明、奈邊 健 ダニ抗原 (Der f) による皮膚炎症状に対する IL-2/抗 IL-2 抗体複合体の効果 日本薬学会第138年会 金沢 2018/3

中林夏美、中野文菜、中村美菜、水谷暢明 ダニ抗原(Der f)による皮膚炎症状に対する抗 IL-22 抗体の効果 日本薬学会年会第139回 2019/3

中野文菜、中林夏美、中村美菜、水谷暢明 原(Der f)による皮膚炎症状に対する IL-22 の増悪化反応に関する検討 日本薬学会年会第139回 2019/3

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。