

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16349

研究課題名(和文) 乾癬患者の紫外線療法によるTH17細胞及びアディポサイトカインへの効果

研究課題名(英文) Effects of phototherapy on TH 17 cells and adipocytokines in patients with psoriasis

研究代表者

齋藤 稚代 (Saito, Chiyo)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：10571507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：光線療法によって、乾癬患者の末梢血において制御性T細胞を誘導し、誘導された制御性T細胞が患者の臨床症状と反比例していることを明らかにした。紫外線は制御性T細胞の誘導によりTh17細胞の活性化を抑えようと考えられるが、実際に乾癬患者の末梢血Th17細胞がPUVAバス治療後有意に減少していた。光線療法開始前後、CD4陽性細胞を分離し、細胞内IL-17、IL-22の細胞内サイトカイン染色を行った。IL-17のみならず、IL-22でも同様に減少することがわかり、乾癬の病態におけるIL-22の関与があること、また、光線療法によってTH17細胞、Th22細胞の抑制に働くことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果は、光線療法のメカニズムの一部を明らかにするとともに、乾癬の病態がより明確になることが期待される。またTh17細胞がその病態に関与していると考えられている自己免疫性脳脊髄炎(多発性硬化症)や様々な自己免疫疾患に対し光線療法が応用できる可能性があり、今回の研究がその足がかりとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Phototherapy induced regulatory T cells in the peripheral blood of patients with psoriasis. We showed that the induced regulatory T cells were inversely related to the patient's clinical symptoms. Phototherapy may suppress the activation of Th 17 cells by inducing regulatory T cells, but in fact, peripheral blood Th 17 cells in psoriatic patients were significantly decreased after bath-PUVA treatment. Before and after phototherapy, CD4+ cells were isolated and intracellular cytokine staining for intracellular IL-17 and IL-22 was performed. In addition to IL-17, IL-22 was also decreased, indicating the involvement of IL-22 in psoriasis and the suppression of TH 17 and Th 22 cells by phototherapy.

研究分野：要入力

キーワード：紫外線療法 乾癬 アディポサイトカイン 制御性T細胞 TH17

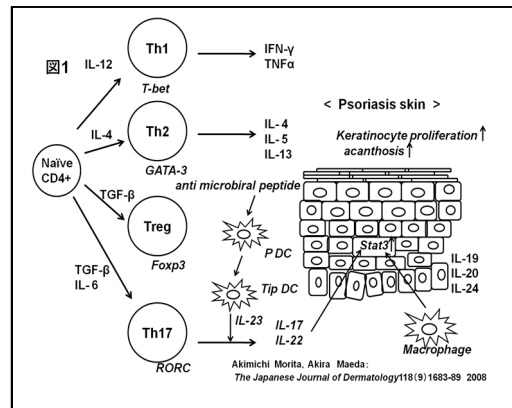
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ナローバンド UVB や PUVA バスなど紫外線療法は皮膚科領域において尋常性乾癬やアトピー性皮膚炎など慢性炎症性皮膚疾患に対して有用性が認められており、特にステロイド外用薬を含む第 1 選択治療が無効の症例ないしはこれらの治療に対して抵抗を示す症例に対し用いられている。紫外線療法は乾癬をはじめ多くの慢性炎症性疾患に有効で、実際に皮膚科の日常診療において頻繁に行われている。近年の研究により Th17 細胞が尋常性乾癬や接触性皮膚炎などの慢性炎症性皮膚疾患の病態に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。乾癬皮膚部の Th17 細胞は同部に浸潤する TNF- $\alpha$  産生炎症性樹状細胞 (Tip-DCs) が放出する IL-23 により活性化されている。この Tip-DC は CD11c 陽性 BDCA-1 陰性 inflammatory DC のなかのサブpopulationと考えられている。さらにこの樹状細胞より発現する IL-20 や Th17 細胞が発現する IL-22 が表皮ケラチノサイトに作用し乾癬の病態を形成していると考えられる。

UVB が免疫学的トレランスを誘導することは古くから広く知られおりそのメカニズムに関しても制御性 T 細胞の関与が報告されてい

る。また PUVA バスによる免疫抑制効果に関しては、近年我々が乾癬患者の末梢血において FoxP3 陽性制御性 T 細胞を誘導し、この制御性 T 細胞の誘導が患者の臨床症状と反比例していることを明らかにした (Saito C et al. J Dermatol Sci. 2008)。紫外線は制御性 T 細胞の誘導により Th17 細胞の活性化を抑えられとされるが、実際 Th17 細胞の誘導における紫外線の影響はほとんど検討されていない。preliminary な検討では末梢血 Th17 細胞が PUVA-bath 治療後有意に減少していた。



### 2. 研究の目的

紫外線治療による末梢血 Th17 細胞の減少をもたらすかどうか、また、光線治療の実際の臨床効果と相関するかどうかを検討するために症例数を増やし検討したい。さらに IL-17A, 22 をはじめとして近年乾癬の病態との関連がいわれているサイトカインの血清濃度を光線療法前後で検討し、光線療法のメカニズムを探る。

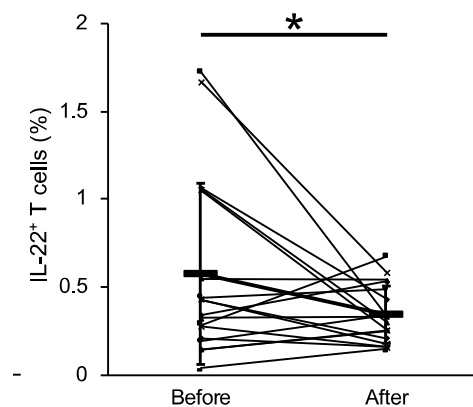
### 3. 研究の方法

光線治療前後の乾癬患者末梢血 Th17 細胞の変動の検討について、紫外線治療をうける乾癬患者に研究目的を伝え、同意が得られた患者から採血を行う。この際は、血清も同時に採取する。光線療法開始前と、光線療法後に 20cc のヘパリン採血を行い、ficoll-paque density gradient centrifugation によって末梢血単核を得る。得られた単核球より CD4 陽性細胞を MACS にて分離する。PMA および ionomycin にて刺激したのち細胞内 IL-17 染色を行う。解析は FACS にて行われる。すなわち、患者血液中の Th17 細胞が光線治療によりどのように変動するかを見る研究である。また IL-17 のみならず IL-21 や 22 等についても intracellular cytokine staining にて検討し、Th17 や Th22 等の変化がどのように光線療法の治療効果に結びついているかを検討する。またホーミングレセプターについても検討し、これにより血液中の Th17 や Th22 に対する紫外線の影響が実際にどのように皮膚病変の改善に結び付くかが明らかとなり、紫外線のより詳細なメカニズムの解明へ結びつくものと

期待できる。さらに患者血清における IL-17A, IL-21, IL-22, IL-23 などの血清中サイトカインの濃度を ELISA により測定し、血清中サイトカインの変動と光線療法の臨床効果との相関を検討する。

#### 4. 研究成果

光化学療法のひとつである **PUVA** バスによる免疫抑制効果に関しては、申請者が乾癬患者の末梢血において **Foxp3** 陽性制御性 **T** 細胞を誘導し、この制御性 **T** 細胞の誘導が患者の臨床症状と反比例していることを明らかにした。紫外線は制御性 **T** 細胞の誘導により **Th17** 細胞の活性化を抑えると考えられるが、実際 **Th17** 細胞の誘導における紫外線の影響では末梢血 **Th17** 細胞が **PUVA-bath** 治療後有意に減少していた。紫外線療法開始前と、紫外線療法後に **ficol-paque density gradient centrifugation** によって末梢血単核を得た。**CD4** 陽性細胞を **MACS** にて分離し、**PMA** および **ionomycine** にて刺激したのち細胞内 **IL-17** 染色を行った。**IL-21** や **22** 等についても **intracellular cytokine staining** にて検討し、**Th17** や **Th22** 等の変化がどのように紫外線療法の治療効果に結びついているかの検討を行った。**IL-17** については、治療前に値が高い場合に減少がみられ、**IL-22** でも同様に減少することが明らかとなった。乾癬の病態における **IL-22** 細胞の関与があること、また、紫外線療法によって **Th22** 細胞の **IL-22** の産生抑制をもたらす可能性が示唆された。



さらに、**IL-22** 陽性 **T** 細胞および **IL-22+IL-17+** 二重陽性 **T** 細胞レベルは紫外線療法により有意に減少した。この細胞集団に対する紫外線の有効性を評価するために、乾癬患者における治療前後を比較した。単一および二重陽性 **T** 細胞を評価した。紫外線療法は、**IL-17A+ IL-22- T** 細胞及び **IL-22+IL-17A+ T** 細胞 (**Th 22**) を減少させなかったが、対照的に **IL-22+IL-17+** 二重陽性 **T** 細胞を著明に減少させた。これらのデータは、光線療法の標的が **IL-22+IL-17+** 二重陽性 **T** 細胞である可能性を示唆した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Ryoji Kubo, Shinnosuke Muramatsu, Yoko Sagawa, Chiyo Saito, Saori Kasuya, Akiko Nishioka, Emi Nishida, Sayuri Yamazaki, Akimichi Morita	4. 巻 86
2. 論文標題 Bath-PUVA therapy improves impaired resting regulatory T cells and increases activated regulatory T cells in psoriasis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 46-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdermsci.2017.01.001	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 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鳥居寛、久保良二、古橋卓也、村松伸之介、佐川容子、齋藤稚代、山崎小百合、西田絵美、森田明理
2. 発表標題 光線療法による制御性T細胞の誘導と機能回復-光線療法の機序解析
3. 学会等名 第39回日本光医学・光生物学会
4. 発表年 2017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
---------------------------	-----------------------	----