

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08304

研究課題名(和文) アレルギー性皮膚疾患における転写因子IRF3を介する自然免疫シグナルの役割の解明

研究課題名(英文) Investigation of the role of transcription factor, IRF3 in allergic dermatitis

研究代表者

嶋岡 理沙 (Mineoka, Risa)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：80464585

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)：本研究では、自然免疫に重要な役割を果たす転写因子のIRF3欠損マウスを用いて、マウス耳介皮膚のハプテン・刺激物質単回あるいは反復塗布を行い、急性および慢性皮膚炎におけるIRF3の役割を検討した。その結果、IRF3-欠損マウスでは野生型マウスに比べて、急性および慢性アレルギー性皮膚炎および刺激性皮膚炎での皮膚の炎症反応が有意に増大することを見出した。さらに、IRF3-欠損マウスでは、表皮の一部のサイトカイン産生が、野生型マウスに比べて、増大していることを解明した。以上の結果より、IRF3シグナルは、アレルギー性および非アレルギー性の皮膚の炎症において制御する役割をもつ可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性皮膚疾患の病態形成を解明することは非常に重要な課題であるが、その分子機構はいまだに解明されていない点が多い。申請者はこれまでにアレルギー性皮膚炎の病態における自然免疫の役割を解明してきた。本研究で自然免疫のシグナルで重要な役割を果たす転写因子のIRF3の役割が解明されれば、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性皮膚疾患の機構についての研究を大きく進展させ、免疫・炎症機構の解明に新たな展開をもたらすことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Interferon regulatory factor 3 (IRF3) is a transcription regulator of cellular responses in many cell types that is known to be important for innate immunity including toll-like receptor 3 (TLR3) signaling. In this study, we examined the role of IRF-3 in allergic and irritant dermatitis by applying a hapten/stimulant singly or repeatedly to the auricular skin of the IRF3-deficient mice. The ear swelling responses in acute/chronic allergic dermatitis and irritant dermatitis were significantly enhanced in the IRF3-deficient mice compared with wild-type mice. In addition, IRF3 deficiency increased leukocyte infiltration into the inflamed skin. Furthermore, the production of some cytokines in the epidermis was increased in the IRF3-deficient mice as compared with wild-type mice. These findings suggest the IRF3 signaling may regulate allergic and non-allergic skin inflammation.

研究分野：皮膚科学、アレルギー学

キーワード：自然免疫 IRF3 転写因子 皮膚 接触皮膚炎 刺激性皮膚炎

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

皮膚はアレルゲンや病原体などの様々な外的因子にさらされており、これらの刺激によりアレルギー炎症が生じ、掻破などにより皮膚炎の慢性化・難治化が生じる。したがって、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性皮膚疾患の病態形成を解明することは非常に重要な課題であるが、その分子機構はいまだに解明されていない点が多い。申請者はこれまでにアトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性皮膚疾患の発症および慢性化における病態の解明を一貫とした研究テーマとして、アレルギー性皮膚炎の病態における Toll 様受容体 (TLR) や、IL-33 や TSLP などの表皮由来サイトカインの役割などを見出してきた。

病原体を認識する TLR はこれまでにヒトで 10 種類同定されており、自然免疫だけでなく、アレルギーなどの獲得免疫にも深く関与していることが解明されてきている。TLR3 はウイルスの 2 本鎖 RNA を外因性リガンドとして認識し、感染性炎症反応に重要であることが知られているが、近年自己組織由来の内因性リガンドを認識し、非感染性炎症反応にも深く関与していることが解明されてきた。本研究者はアレルギー性および刺激性接触皮膚炎、さらに皮膚炎が慢性化したアトピー性皮膚炎において、TLR3 シグナルを介した表皮角化細胞からのサイトカイン産生が、その病態形成に重要な役割を果たしていることを世界で初めて明らかにした (J Invest Dermatol 2015, J Dermatol Sci 2017)。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、アレルギー性皮膚疾患の病態形成における TLR - 転写因子 IRF3 シグナル - 表皮由来サイトカインを介した機序の役割を解明することである。

### 3. 研究の方法

マウス耳介皮膚のハプテン単回あるいは反復塗布を行うことにより、急性接触皮膚炎およびアトピー性皮膚炎などの病態に類似した慢性アレルギー性皮膚炎を誘導する。また、皮膚の刺激物質である Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (PMA) の単回塗布を行うことにより、刺激性皮膚炎を誘導する。野生型マウスと IRF3 欠損マウスを用いて、以下の検討を行う。

(1) ハプテン・刺激性物質塗布後の耳介腫脹の変化、耳介皮膚組織の組織学的所見を検討し、炎症の程度を評価する。

(2) 刺激性皮膚炎、急性および慢性アレルギー性皮膚炎の病態において、IRF3 シグナルを介する表皮由来メディエーター放出が関与しているかを検討するために、皮膚組織サンプルを用いて、real-time PCR を行い、サイトカイン産生について検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 耳介の腫脹の変化

PMA をマウス耳介皮膚に塗布し、刺激性皮膚炎を誘導し、塗布 24 時間後の耳介の厚さを測定した。結果は、IRF3 欠損マウス (IRF3KO PMA) は、野生型マウス (WT PMA) に比べて、耳介の厚さが統計学的に有意に増大していた (図 1)。

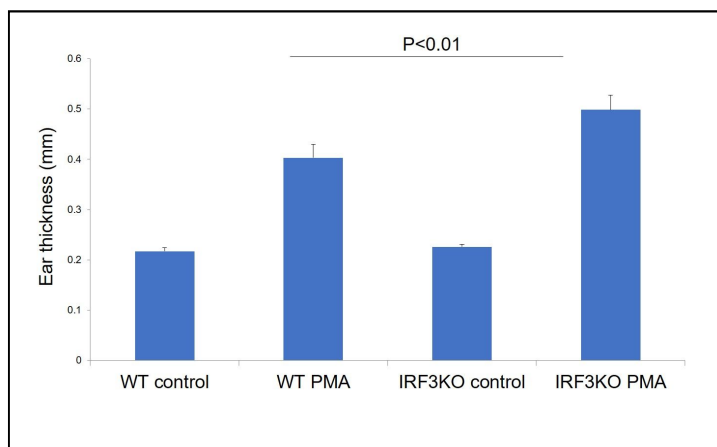


図 1. PMA 塗布 24 時間後の耳介の厚さ

WT control: 野生型マウス、溶媒塗布  
WT PMA: 野生型マウス、PMA 塗布  
IRF3KO control: IRF3 欠損マウス、溶媒塗布  
IRF3KO PMA: IRF3 欠損マウス、PMA 塗布

ハプテンである 2,4,6-Trinitrochlorobenzene (TNCB) をマウス耳介皮膚に単回塗布して、急性アレルギー性接触皮膚炎を誘導し、塗布 24 時間後の耳介の厚さを測定した。結果は、刺激性皮膚炎と同様に、IRF3 欠損マウスでは、野生型マウスに比べて、耳介の厚さが有意に増大していた。また、TNCB を反復塗布し、慢性アレルギー性接触皮膚炎を誘導したところ、IRF3 欠損マウスでは、野生型マウスに比べて、耳介の厚さが統計学的に有意に増大していた。

## (2) 耳介皮膚の組織学的所見

次に耳介皮膚の組織学的所見について検討した。野生型マウスおよび IRF 欠損マウスともに、PMA 塗布および TNCB 単回塗布・反復塗布 (図 2) 後では、耳介皮膚の真皮に著明な白血球浸潤を認めた。

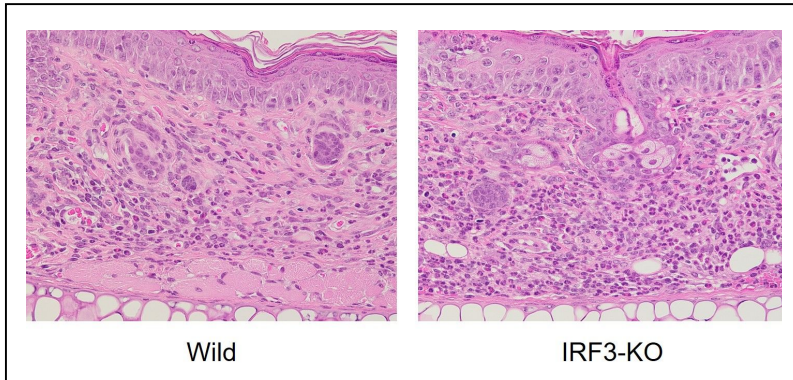


図 2. TNCB 反復塗布による慢性アレルギー性接触皮膚炎の組織学的所見

Wild: 野生型マウス  
IRF3-KO: IRF3 欠損マウス

## (3) 皮膚へ浸潤した白血球数

耳介皮膚の真皮に浸潤した白血球数を計測したところ、図 3 によると、IRF3 欠損マウス (IRF3KO PMA) は、野生型マウス (WT PMA) に比べて、PMA 塗布後の耳介の厚さが有意に増大していた。また、TNCB 単回塗布・反復塗布後の耳介皮膚の真皮に浸潤した白血球数も同様に、IRF3 欠損マウスでは野生型マウスに比べて増加していた。

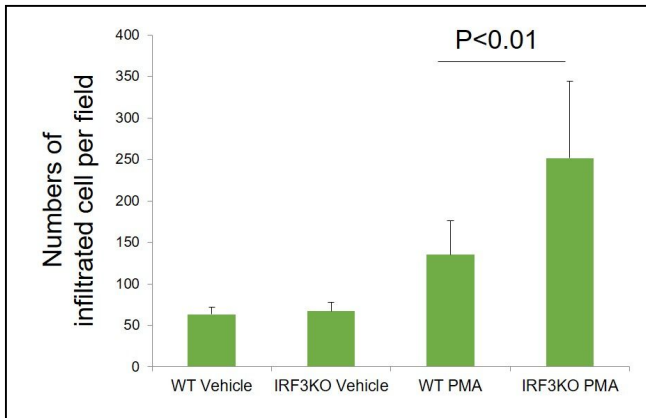


図 3. PMA 塗布 24 時間後の耳介皮膚の真皮に浸潤した白血球数

WT control: 野生型マウス、溶媒塗布  
WT PMA: 野生型マウス、PMA 塗布  
IRF3KO control: IRF3 欠損マウス、溶媒塗布  
IRF3KO PMA: IRF3 欠損マウス、PMA 塗布

## (4) 耳介皮膚のサイトカイン発現

最後に、耳介皮膚から RNA を抽出し、real-time PCR を行って、サイトカイン発現を解析したところ、IRF3 欠損マウス (IRF3KO PMA) では、野生型マウス (WT PMA) に比べて、IL-1 $\beta$  の発現が有意に増加していた。

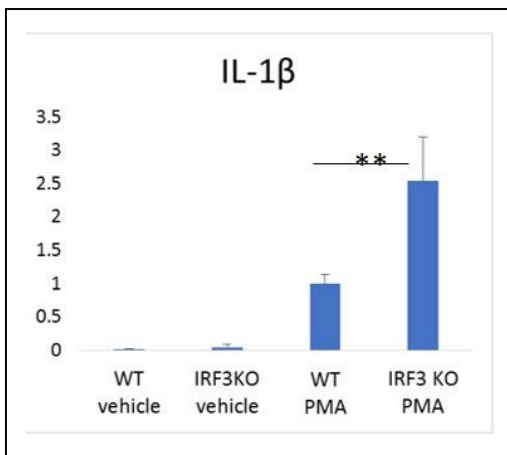


図 4. PMA 塗布 24 時間後の耳介皮膚の IL-1 $\beta$  の発現

WT control: 野生型マウス、溶媒塗布  
WT PMA: 野生型マウス、PMA 塗布  
IRF3KO control: IRF3 欠損マウス、溶媒塗布  
IRF3KO PMA: IRF3 欠損マウス、PMA 塗布

以上の結果より、IRF3 シグナルは、アレルギー性および非アレルギー性の皮膚の炎症において制御する役割をもつ可能性が考えられた。今後さらに機序を解明していくことにより、IRF3 シグナルが炎症性疾患の治療に活用できることが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nakamura, TamagawaMineoka, et al.	4. 巻 69
2. 論文標題 Stratum corneum interleukin-25 expressions correlate with the degree of dry skin and acute lesions in atopic dermatitis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 462-464
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2020.02.001.	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 -
1. 著者名 Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 21
2. 論文標題 Atopic Dermatitis: Identification and Management of Complicating Factors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 2671
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21082671.	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 -
1. 著者名 Arakawa, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 34
2. 論文標題 Serum thymus and activation-regulated chemokine levels before and after treatment for pruritic scabies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Eur Acad Dermatol Venereol	6. 最初と最後の頁 e817-e818
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdv.16698.	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 Yasuike, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 70
2. 論文標題 Plasma miR223 is a possible biomarker for diagnosing patients with severe atopic dermatitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 153-155
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2020.07.010.	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 -

1. 著者名 Nakanishi, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 70
2. 論文標題 Dupilumab-resistant facial erythema - Dermoscopic, histological and clinical findings of three patients.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 156-158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.07.001.	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 -

1. 著者名 Maeno, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 48
2. 論文標題 Metal patch testing in patients with oral symptoms.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 85-87
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15606.	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 Nakahara, Izuhara, Onozuka, Nunomura, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 90
2. 論文標題 Exploration of biomarkers to predict clinical improvement of atopic dermatitis in patients treated with dupilumab: A study protocol.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e22043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000022043.	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 -

1. 著者名 Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 101
2. 論文標題 Topical application of toll-like receptor 3 inhibitors ameliorates chronic allergic skin inflammation in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci	6. 最初と最後の頁 141-144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2020.11.007.	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 Kishibe, Saijo, Igawa, Maruyama, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Gender disparities in academic dermatology in Japan: Results from the first national survey.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2021.01.011.	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 Mizutani H, Tamagawa-Mineoka R, et al.	4. 巻 30
2. 論文標題 Effects of constant light exposure on allergic and irritant contact dermatitis in mice reared under constant light conditions.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Dermatol	6. 最初と最後の頁 739-744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.14308.	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 Sotozono, Arakawa, Tamagawa-Mineoka, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Allergic contact dermatitis due to ripasudil in eye drops.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Contact dermatitis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cod.13865.	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 Nakamura N, Tamagawa-Mineoka R, Yasuike R, Masuda K, Matsunaka H, Murakami Y, Yokosawa E, Katoh N.	4. 巻 201
2. 論文標題 Stratum Corneum interleukin-33 Expressions Correlate With the Degree of Lichenification and Pruritus in Atopic Dermatitis Lesions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2019.02.006	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 該当する

1. 著者名 Nakamura N, Tamagawa-Mineoka R, Ueta M, Konishi E, Yasuike R, Masuda K, Matsunaka H, Murakami Y, Yokosawa E, Kato N.	4. 巻 94
2. 論文標題 Stratum Corneum Toll-like Receptor 3 Expressions Correlate With the Severity of Atopic Dermatitis Lesions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 354-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.05.005	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 該当する

〔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
研究分担者	上田 真由美  (Ueta Mayumi)  (60398386)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任准教授    (24303)	

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