

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16041

研究課題名(和文) Th2サイトカインによる尋常性乾癬制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of the role of Th2 cytokines in psoriasis

研究代表者

沼田 貴史 (Numata, Takafumi)

東京医科大学・医学部・助教

研究者番号：90791806

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)：I11rngfp/gfpマウスでは耳介の皮膚で野生型マウスに比べてGFPの発現が亢進していた。I11rngfp/gfpマウスの耳介の皮膚では角化細胞でGFPが陽性であった。I11rn-/-マウスの角化細胞ではwild-typeに比べてIL-25とIL-33の発現が増加した。ST2は角化細胞で発現が亢進していた。IL-17RBは樹状細胞とマクロファージで発現がみられた。リコンビナントIL-25を局所注射したマウスの耳介では樹状細胞数は増加し、皮膚炎が誘導できた。しかし、IL-10陽性の樹状細胞はほとんどみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尋常性乾癬は人口の約0.1~2%が罹患する慢性炎症性皮膚疾患であり、有病率は増加傾向にある。近年、TNF やIL-17Aを標的とした抗体療法が重症患者に用いられ、治療の選択肢は広がっている。尋常性乾癬の病変部では、Th2サイトカインであるIL-25とIL-33の発現がみられるが、詳細な機能は不明である。IL-25とIL-33と尋常性乾癬の症状との関係を解明することは、難治性病変に対する治療に役立つと考えた。

研究成果の概要(英文)：IL-1Ra-GFP expression was observed in the keratinocytes of I11rnGFP/GFP mice, but not wild-type mice. The production of IL-25 and IL-33 was higher in keratinocytes of skin lesions of I11rn-/- mice than in those of wild-type mice. Intradermal administration of recombinant (r)IL-25 could induce inflammatory cell infiltrations, however, the population of IL-10+ dendritic cells was comparable between rIL-25-treated skin lesion and vehicle-treated skin lesion in I110GFP/GFP mice.

研究分野：皮膚科学分野

キーワード：IL-25 IL-33 尋常性乾癬 IL-1Ra

1. 研究開始当初の背景

尋常性乾癬は人口の約 0.1~2%が罹患する慢性炎症性皮膚疾患であり、有病率は増加傾向にある。近年、TNF α や IL-17A を標的とした抗体療法が重症患者に用いられ、治療の選択肢は広がっている。しかし、抗体療法が無効な患者がおり、また、軽微な皮膚炎や痒痒でも、患者の QOL は低下するため、さらなる病態の解明や治療薬の開発が不可欠である。尋常性乾癬の病変部では、Th2 サイトカインである IL-25 と IL-33 の発現がみられるが、それらの詳細な機能は不明である。IL-25 および IL-33 と尋常性乾癬の症状との関係を解明することは、尋常性乾癬に対する治療の進歩に役立つと考えた。

2. 研究の目的

Interleukin (IL)-1 receptor antagonist(IL-1Ra)-deficient (*Il1rn*^{-/-}) マウスは IL-1Ra をもたないために、尋常性乾癬様の皮膚炎を自然発症する。そこで、ヒトでも IL-1Ra 遺伝子の変異や機能不全が、尋常性乾癬の発症や症状増悪に影響を及ぼしている可能性を考え、*Il1rn*^{-/-} マウスでの IL-25 と IL-33 を解析することが有意義であると考えた。

3. 研究の方法

乾癬モデルマウスである *Il1rn*^{-/-} マウスの耳介に生じた皮膚炎の詳細な解析と、*Il1rn*^{-/-} マウス、*Il25*^{-/-}*Il1rn*^{-/-} マウスと、*Il33*^{-/-}*Il1rn*^{-/-} マウスに生じた皮膚炎を比較検討することで、IL-25 と IL-33 が尋常性乾癬に及ぼす影響を明らかにする。

- (1) *Il1rn*^{-/-} マウスの耳介に生じた皮膚炎での IL-1Ra を発現する細胞の同定を行なった。
- (2) IL-25 と IL-33 の発現が尋常性乾癬の発症や症状増悪に影響を及ぼしている可能性を考え、乾癬モデルマウスでの IL-25 と IL-33 を発現している細胞の同定を行なった。
- (3) *Il1rn*^{-/-} マウスの耳介の皮膚では IL-25 が樹状細胞やマクロファージからの IL-10 の産生を誘導することで皮膚炎を抑制的に制御していると考えた。そこで、野生型マウスと *Il10*^{GFP/GFP} マウス(IL-10 を機能的に欠損し、代わりに GFP を発現するマウス)の耳介の皮膚にリコンビナント IL-25(rIL-25)を局所注射し、樹状細胞の IL-10 の発現量を FACS で確認した。

4. 研究成果

- (1) IL-1Ra の発現細胞の同定には、IL-1Ra 遺伝子の欠損部位に GFP を組み込んだマウス (*Il1rn*^{gfp/gfp} マウス)を用いた。*Il1rn*^{gfp/gfp} マウスでは耳介の皮膚で野生型マウスに比べて GFP の発現が亢進していることが Real time PCR で確認できた(*Sci Rep*, **9**, 17067, 2019)。*Il1rn*^{gfp/gfp} マウスの耳介皮膚を回収し、凍結切片を作製した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて GFP の発現細胞を確認することで、耳介皮膚で IL-1Ra が発現している細胞を同定した。*Il1rn*^{gfp/gfp} マウスでは角化細胞で GFP が陽性であった。よって、IL-1Ra は主に角化細胞で発現し、乾癬様皮膚炎を抑制的に制御していると考えた。
- (2) *Il1rn*^{-/-} マウスの耳介を採取し、抗 IL-25 抗体と抗 IL-33 抗体を用いて免疫染色を行なった。また、IL-33 の受容体である ST2 と IL-25 の受容体である IL-17RB を発現する細胞を抗 ST2 抗体と抗 IL-17RB 抗体を用いて免疫染色で解析した。*Il1rn*^{-/-} マウスの角化細胞では wild-type に比べて IL-25 と IL-33 の発現が増加した。ST2 は角化細胞で発現が亢進していることを確認した。IL-17RB は樹状細胞とマクロファージで発現がみられた。

(3)rIL-25 を局所注射したマウスの耳介では樹状細胞を含む炎症細胞数は増加し、皮膚炎が誘導できた。しかし、IL-10-GFP 陽性の樹状細胞はほとんどみられなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 沼田 貴史, 吉崎 隆道, 山口 幸子, 原田 和俊, 大久保 ゆかり, 須藤 カツ子, 坪井 良治, 中江 進 |
| 2. 発表標題 IL-25とIL-33はIl1rn-/-マウスに生じた乾癬様皮膚炎を抑制する |
| 3. 学会等名 第117回日本皮膚科学会総会 |
| 4. 発表年 2018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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|