

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08774

研究課題名(和文) 乾癬発症におけるランゲルハンス細胞の役割：遊走および抗原提示についての検討

研究課題名(英文) The role of Langerhans cells in the pathogenesis of psoriasis

研究代表者

中島 喜美子 (Nakajima, Kimiko)

高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・准教授

研究者番号：20403892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：乾癬モデルマウス(K5.Stat3Cマウス)乾癬誘導部に感作惹起したところ、アレルギー性皮膚炎が高度に誘導された。Langerin-Cre: Zeb2 KO miceのイミキモド(IMQ)誘発性乾癬様病変はコントロールと比較して同程度に誘発され、リンパ節へのLCの遊走も同程度であった。LC Cre:MHC class II KOマウスにおけるIMQ誘発乾癬様病変はより誘導された。以上のことより、乾癬では接触皮膚炎が起こりやすく、乾癬病変成立時におけるLCの遊走はZEB2以外の因子に制御されLCのMHC class IIを介した抗原捕獲は乾癬発症を抑制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

乾癬は、欧米で人口の2-4%を占める頻度の高い疾患であり、本邦においても患者数は増加している。IL-23/Th17を中心とした免疫変調は解明されつつあるが、その病態は十分明らかになっていない。我々は、乾癬の免疫病態において重要な役割を担うLCの機能および遊走について検討した。これは乾癬病態の新たな側面を見いだしたものであり、学術的意義は高い。また、乾癬患者は接触性皮膚炎を起こしやすい知見の啓蒙は、社会的意義があるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Firstly, we examined the development of contact dermatitis in psoriasis lesions in which LC is involved in the pathogenesis. Sensitization of psoriasis-induced areas of psoriasis model mice showed a high degree of skin thickening in the areas of elicitation compared to control mice. Moreover, IMQ-induced psoriasis-like lesions in Langerin-Cre: Zeb2 KO mice were induced to the same extent as in control mice. In addition, migration of LCs in Langerin-Cre: Zeb2 KO mice skin to their lymph nodes was also comparable. Furthermore, IMQ-induced psoriasis-like lesions in LC Cre:MHC class II KO mice were more induced compared to control mice. These findings suggest that psoriasis patients may be prone to contact dermatitis, that LC migration during the establishment of psoriasis-like lesions is regulated by factors other than ZEB2, and that antigen capture via MHC class II of LCs may inhibit the development of psoriasis lesions.

研究分野：皮膚科学

キーワード：乾癬 Stat3 ランゲルハンス細胞 MHC-class II 接触皮膚炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乾癬は、多遺伝子・多因子性の複合的要因のもとに、表皮と免疫細胞間の病的クロストークにより発症する。表皮炎症に引き続き自然免疫の賦活化、さらに獲得免疫、特に Th17 細胞の活性化カスケードが再び表皮を刺激することにより乾癬の病態は形成される。我々は表皮細胞特異的に活性化型 Stat3 を恒常的に発現するマウス(K5.Stat3C)を作製し、このマウスにおける臨床所見、病理所見、遺伝子プロファイル、生物学的製剤の効果がヒトの乾癬病態を再現するものであることを報告し、表皮における Stat 3 の活性化が IL-23/IL-17 シグナルを主とする免疫変調を誘導することを明らかにした (Nat Med 2005;11:42-49, J Immunol 2011;186:4481)。表皮の免疫系細胞とりわけランゲルハンス細胞(LC)が乾癬の発症初期にどのような働きを演じているか未だ不明である。申請者らは、diphtheria toxin 投与により LC を除去できる langerin-DTR KI マウスと K5.Stat3C マウスを交配し、乾癬様皮疹の誘導が完全に抑制され、乾癬病態における LC が IL-23 を産生していることを確認した。さらに、ヒト乾癬病変における LC が IL-23 を産生していることを明らかにした。これは、LC が乾癬様皮膚炎に必須の役割をしている事実を示唆する (J Dermatol Sci 2019; 93: 82-91)。本研究では、乾癬発症に必須である LC の機能を検討する。

2. 研究の目的

乾癬病態における表皮内 LC の機能および LC の遊走を制御する分子を検討することを目的とした。

- 1) 乾癬モデルマウスにおいて接触皮膚炎を誘導 (実験 1)
 - 2) 乾癬モデルマウスの LC の皮膚所属リンパ節への遊走 (実験 2)
 - 3) 乾癬モデルマウスにおける MHC class II の病態への関与 (実験 3)
- を検討する実験を行った。

3. 研究の方法

実験 1

乾癬モデルマウス (K5.Stat3C マウス) の背部に TPA (tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13- acetate) 3.4nmol, 200 μ l を週 3 回外用した。乾癬様病変を誘導し同部位に 0.3%, 100 μ l の DNFB (2,4-dinitrofluorobenzene) を感作し、5 日後に、耳介に 0.15%, 20 μ l の DNFB を塗布 (惹起) し、耳介皮膚の厚さを測定した。

実験 2

表皮に局在している LC の皮膚所属リンパ節への遊走に転写因子である zinc-finger E-box-binding-homobox(ZEB1/2) が関与しているとの報告がある (Eur J Immunol 2014; 44: 553)。Langerin-cre マウスと ZEB2 flox マウスを交配することで、LC 特異的に ZEB2 を欠失したノックアウトマウス(Langerin-Cre: Zeb2 KO mice)を作製し、Imiquimod (IMQ) 誘発性乾癬様病変を観察した。

実験 3

Langerin-cre マウスと MHC class II flox マウスを交配することで、LC 特異的に MHC class II を欠失したノックアウトマウス(LC cre:MHC class II KO)を作製し、IMQ 誘発性乾癬様病変を観察した。

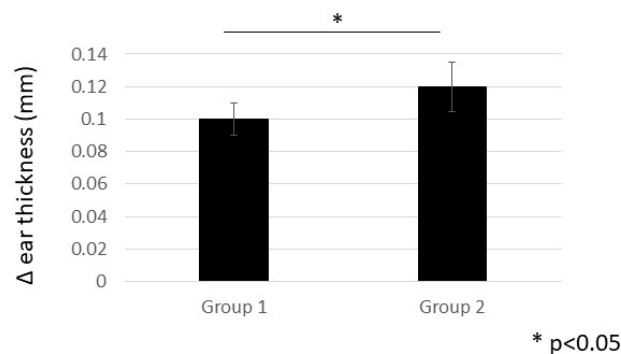
4. 研究成果

1) 乾癬モデルマウスにおいて接触皮膚炎を誘導（実験1）

LC が病態に関与するアレルギー性接触性皮膚炎の乾癬病変における発症について検討した。接触皮膚炎は感作時に、外来ハプテンが表皮内を通過して蛋白と結合しハプテン蛋白結合物を形成する。このハプテン結合物を LC が捕獲し、皮膚所属リンパ節に遊走し抗原情報を T リンパ球に伝え、感作リンパ球が誘導される。惹起相では、再び接触アレルギーが接触後、表皮細胞よりサイトカインなどが産生され、様々の免疫担当細胞が動き、活性化 T リンパ球が表皮を障害し、アレルギー性刺激性皮膚炎が成立する。我々は、乾癬モデルマウス (K5.Stat3C) 背部に TPA を塗布し、乾癬様病変を誘導した。乾癬病変誘導時に、皮膚所属リンパ節における LC (CD11c+, MHC class2+, CD80+, CD207+細胞) は、乾癬非誘導病変と比較し、増加していることをフローサイトメトリーで確認した。この所見は、乾癬病変誘導することによって、LC が活性化していることを示唆した。TPA 塗布、2, 3, 4 週間後の皮膚所属リンパ節への LC の遊走を比較すると、2 週間後が、最も高値であったため、TPA 塗布 2 週後に、感作を行った。次に、乾癬病変誘導部位（背部）に、接触皮膚炎を感作するため、無塗布群 (Group1)、塗布群 (Group 2) の 2 群に作製した。次に、両群に、惹起相を誘導する 0.15%、20 μ l の DNFB を右耳介に塗布し、左耳介はコントロールとしてアセトンを塗布したところ、Group1 群より Group2 群における耳介の厚さが高値であった。この結果より、乾癬病変では、LC が活性化しており、また、アレルギー性接触皮膚炎は起こりやすいことが明らかになり、乾癬患者において、アレルギー性接触皮膚炎発症頻度は、正常人より高率に発症する可能性を示した。

図1

Sensitization of psoriasis-induced areas of psoriasis model mice (K5.Stat3C mice) showed a high degree of skin thickening in the areas of elicitation compared to control mice.

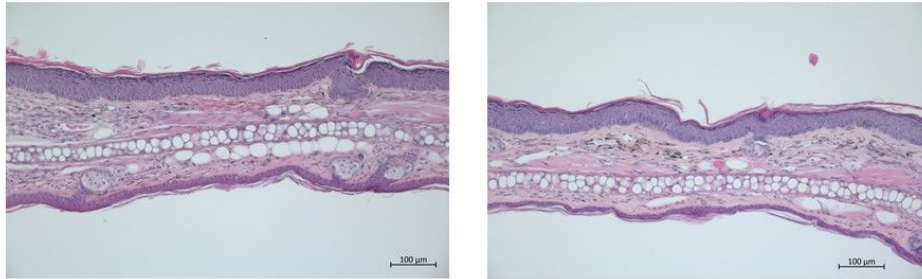


2) 乾癬モデルマウスにおける MHC classII の病態への関与（実験2）

Langerin-Cre: Zeb2 KO mice を作製し、乾癬様病変の誘導を検討した。Langerin-Cre: Zeb2 KO mice に IMQ を塗布すると、乾癬様病変は誘導され、コントロールマウスの表皮肥厚と有意差を認めなかった。Langerin-Cre: Zeb2 KO mice の乾癬様病変における遺伝子発現を、real-time RT-PCR を用いて検討したところ、乾癬関連遺伝子である IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-23p19, S100A8, α -defensins の発現はコントロールマウスと比較して有意差を認めなかった。次に、Langerin-Cre: Zeb2 KO mice の皮膚所属リンパ節へ遊走する樹状細胞 (CD11c+MHC class II+) および LCs (CD207+CD326+CD11c+MHC class II) をフローサイトメトリー解析したところ、コントロールマウスと比較して、有意差を認めなかった。以上のことから、LC の機能における Zeb2 は、LC の皮膚所属リンパ節への遊走および乾癬様病変誘導に関与せず、Zeb2 の働きを Zeb1 などが代償している可能性を考えた。

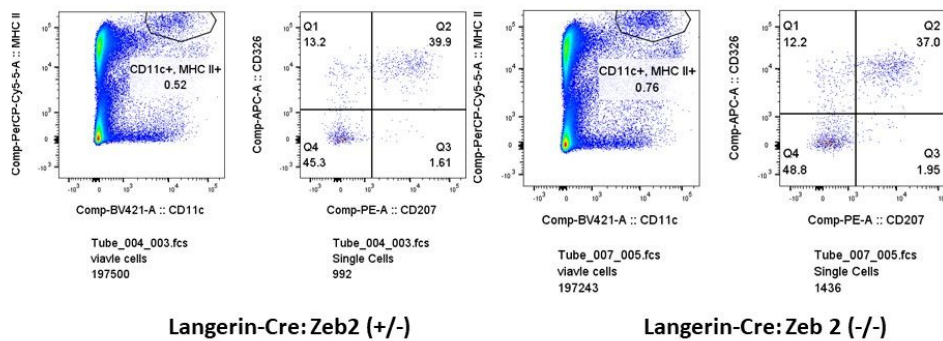
2

Langerin-Cre:Zeb2 KO mice develop psoriasis-like inflammation by topical treatment of IMQ comparable to control mice.

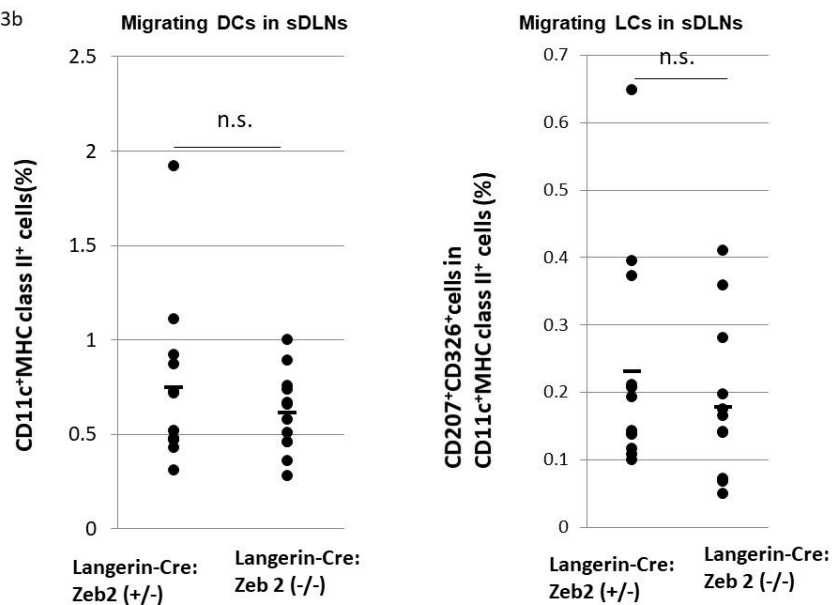


3a

DCs and LCs migrate to sDLNs upon treatment with IMQ in KO mice, comparable to those in controls.



3b



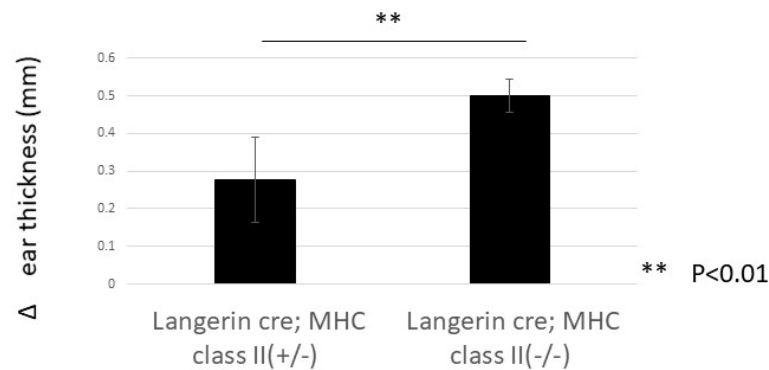
3) 乾癬モデルマウスの LC の皮膚所属リンパ節への遊走 (実験 3)

接触皮膚炎において、LC はハプテン抗原を捕捉したのち表皮から所属リンパ節に遊走し、そこで T 細胞に抗原提示を行うが、LC による T 細胞への「特異的抗原」提示をするかにつ

いても乾癬においては不明である。そこで、申請者らは、LC 特異的に MHC II を欠失したマウス (LC Cre:MHC class II KO マウス) の作成を試み、乾癬様病変が成立するか否かを検討した。我々は乾癬病変部においては LC が活性化し、大型化した LC が表皮突起を角層に向けて伸張している。LC cre:MHC class II KO マウスに IMQ 塗布し乾癬様病変が誘導されれば、LC の MHC class II を介した抗原捕獲は、乾癬病態の成立には関与するのではなく乾癬病変部におけるバリア障害によって、表皮内に浸潤してくる分子を二次的に捕獲している可能性を示すことになる。一方で、乾癬病態の誘導が抑制されれば、LC の MHC II を介した抗原捕獲が乾癬病態誘導に関与する可能性を示す。この場合 LC が捕獲する抗原蛋白により特異的 T 細胞の増殖を引き起こし乾癬発症に一次的な意味を有する可能性が示される。以上の作業仮説のもとに実験すると、コントロールマウスと比較して、LC cre:MHC class II KO マウスの皮膚肥厚はより高度であった。この結果より、LC の MHC class II を介した抗原捕獲は、乾癬病変発症を抑制している可能性が示唆された。

図4

IMQ-induced psoriasis-like lesions in LC Cre:MHC class II KO mice were more induced compared to control mice.



以上のことより、乾癬患者では接触皮膚炎が起こりやすく、また、乾癬様病変成立時における LC の遊走は、ZEB2 以外の因子に制御されていること、また、LC の MHC class II を介した抗原捕獲は、乾癬病変発症を抑制している可能性が示唆された。

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 Kimiko Nakajima, Sayo Kataoka, Shigetoshi Sano
2. 発表標題 Zeb2 in Langerhans cells is dispensable for their migration to skin-draining lymph nodes to develop imiquimod-mediated skin inflammation in mice
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2019年～2020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
研究分担者	山本 真有子 (Yamamoto Mayuko) (20423478)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・助教 (16401)	
研究分担者	中島 英貴 (Nakajima Hideki) (70314995)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・講師 (16401)	
研究分担者	佐野 栄紀 (Sano Shigetoshi) (80273621)	高知大学・教育研究部医療学系臨床医学部門・教授 (16401)	
研究分担者	片岡 佐誉 (Kataoka Sayo) (00437708)	高知大学・設備サポート戦略室・技術専門職員 (16401)	

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