

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08323

研究課題名（和文）乾癬と脂肪肝炎、動脈硬化/心筋障害のクロストークの分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanisms of the cross-talk between psoriasis, steatohepatitis, and atherosclerosis/myocardial damage.

研究代表者

嵯峨 礼美（Saga, Ayami）

大阪大学・大学院医学系研究科・特任研究員（常勤）

研究者番号：10535925

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）：乾癬患者では、脂肪肝炎や冠動脈疾患の有病率が高いことが報告されているが、乾癬が脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害を悪化させるかどうかは明らかにされていない。本研究では、乾癬モデルマウスであるK5.Stat3C Tgマウスを用いて、乾癬が脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害を悪化させるかどうかを解析した。

高脂肪/胆汁酸含有食により脂肪肝炎を誘導させたK5.Stat3C Tgマウスでは、肝臓のマクロファージが増加した。高脂肪食を与えたK5.Stat3C Tg/LDLR KOマウスでは、LDLR KOマウスと比べ、大動脈起始部のプラーク面積が有意に増加し、乾癬の存在により動脈硬化が促進されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床的に、乾癬患者において脂肪性肝疾患や冠状動脈疾患の有病率が高いことや、心筋梗塞のリスクが高いことなど、乾癬と他疾患との関連が報告されている。動物実験では、脂肪肝炎モデルマウスや動脈硬化モデルマウスにおいて、乾癬様皮膚炎を悪化することが報告されていた。しかし、乾癬が脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害を悪化させるかどうかの検討は行われていなかった。乾癬により、全身性に炎症性サイトカインが循環し、肝臓には脂肪肝炎、心血管には動脈硬化/心筋障害が惹起されるメカニズムが解明されれば、臓器間の慢性炎症のクロストークの悪循環を断ち切ることができる新規治療法の提案につながる可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Although a high prevalence of fatty hepatitis and coronary artery disease has been reported in patients with psoriasis, it has not been clarified whether psoriasis exacerbates fatty hepatitis or atherosclerosis/myocardial damage. In this study, we analyzed whether psoriasis exacerbates fatty hepatitis and atherosclerosis/myocardial damage using K5.Stat3C Tg mice, a mouse model of psoriasis.

K5.Stat3C Tg mice induced fatty hepatitis by a high-fat/bile acid-containing diet had increased liver macrophages compared to wild-type mice. In K5.Stat3C Tg/LDLR KO mice fed a high-fat diet, plaque area at the aortic rooting site was significantly increased compared to LDLR KO mice, suggesting that atherosclerosis was accelerated by the presence of psoriasis.

研究分野：循環器内科

キーワード：乾癬 動脈硬化 脂肪肝炎

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乾癬患者では脂肪肝炎の有病率が多いことが報告されている (1)。また、重症の乾癬患者では心筋梗塞のリスクが約 4 倍も高いことが報告されている (2)。これらのことより、乾癬・脂肪肝炎・動脈硬化/心血管疾患相互の臓器間クロストークの存在が示唆される。マウスの研究では、食餌誘導性脂肪肝炎モデルにおいて短期間モデルであるイミキモド (IMQ) 誘導乾癬様皮膚炎が悪化すること (3)、動脈硬化モデルである ApoE KO マウスで IMQ 誘導乾癬様皮膚炎が悪化することが報告されている (4)。しかし、乾癬が、脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害を悪化させるかどうかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

乾癬の研究では、IMQ 塗布による乾癬様皮膚炎モデルマウスが多く使用されてきた。しかし、一か月以上の長期的な IMQ 塗布は、エリトマトーデス様の皮膚炎に変化してしまい乾癬の実験には不向きである (5)。脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害の実験系では一か月以上の高脂肪食負荷が必要であり、IMQ 誘導乾癬モデルは不適である。一方、高知大学の佐野らが開発した K5.Stat3C Tg マウスは、ケラチノサイトで Stat3 が活性化し自然に乾癬様皮膚炎を引き起こすため (6)、長期間の実験が可能であり、多くの乾癬の研究で用いられてきた。本研究では、K5.Stat3C Tg マウスを用いて、乾癬が、脂肪肝炎や動脈硬化/心筋障害を悪化させるかどうかを解析する。

3. 研究の方法

【乾癬と脂肪肝炎の関係】

8-12 週齢の C57B1/6 マウス (WT)、K5.Stat3C Tg マウス (K5.Stat3C) に、高脂肪/胆汁酸食を 8 週間負荷し、乾癬様皮膚炎により脂肪肝炎が悪化するかどうかを下記について評価する。

- 皮膚の組織学的評価：皮膚の HE 染色を行い、皮膚表皮層の肥厚を評価した。
- 血清脂質・ALT の評価：血清脂質 (TG、TC、HDL-C) 及び ALT を測定し評価した。
- 肝臓組織化学的評価：肝臓の炎症細胞浸潤 (HE 染色)、脂肪滴 (オイルレッド O 染色)、マクロファージの浸潤 (F4/80 免疫染色) を組織学的に解析した。

【乾癬と動脈硬化の関係】

高脂肪食を与えることにより動脈硬化を誘導する LDLR KO マウスと K5.Stat3C マウスを交配し、K5.Stat3C Tg/LDLR KO マウスを作製する。8-12 週齢の LDLR KO マウス、K5.Stat3C Tg/LDLR KO マウスに高脂肪食を 6 週間負荷する。乾癬を促進させるために、高脂肪食開始と同時に 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を初回時は週に 2 回、それ以降は週に 1 回、耳に塗布し、乾癬様皮膚炎により動脈硬化が悪化するかどうかを下記により評価した。

- 乾癬様皮膚炎の評価：背部皮膚の HE 染色を行い、皮膚表皮層の肥厚を評価した。
- 動脈硬化領域の評価：大動脈起始部のオイルレッド O 染色にてプラーク面積を評価した。
- 血清脂質の評価：血清 TG、TC 濃度を測定した。また、超遠心法により血清脂質を CM+VLDL、LDL、HDL 分画に分離し、濃度を測定した。
- 血清中の炎症性サイトカインの評価：血清中の TNF- α 、IL-17 を ELISA にて測定した。
- 皮膚の mRNA 発現評価：皮膚から RNA を抽出し、炎症性サイトカイン関係の mRNA 発現を qPCR にて測定した。

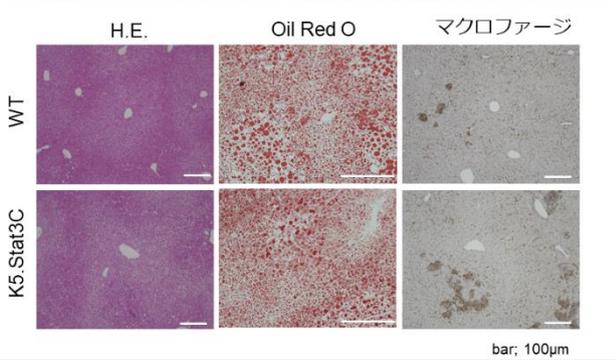
4. 研究成果

【乾癬と脂肪肝炎の関係】

8-12 週齢の WT マウス、K5.Stat3C マウスに高脂肪/胆汁酸食を 8 週間与えたマウスの耳介の HE 染色を行った結果、K5.Stat3C マウスにおいて、表皮の肥厚が認められ、乾癬様皮膚炎の存在

が確認された。血清脂質 (TG、TC、HDL-C) 及び ALT を測定した結果、WT マウスと K5.Stat3C マウスに差は認められなかった。肝臓の組織化学染色の結果、WT マウスに比べ K5.Stat3C マウスにおいて、マクロファージの浸潤が増加した (図1)。しかし、脂肪滴に差は認められなかった。これらの結果より、乾癬様皮膚炎により、肝臓の炎症を惹起する可能性が示唆された。

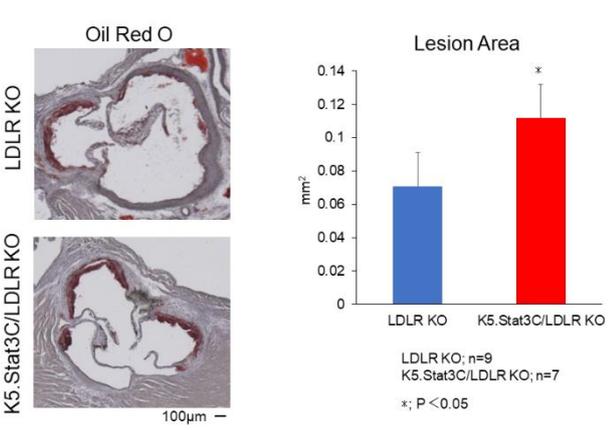
図1. 乾癬様皮膚炎は肝臓のマクロファージを増加させる



【乾癬と動脈硬化の関係】

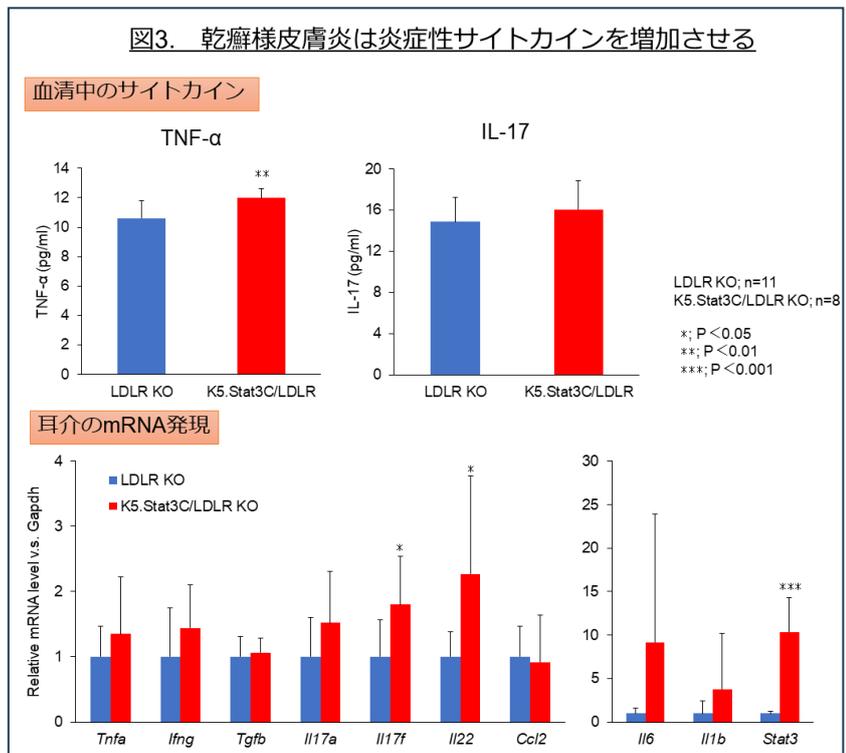
8-12 週齢の LDLR KO マウス、K5.Stat3C/LDLR KO マウスに高脂肪食を6週間与え、同時に TPA 処理を行った後、耳介の HE 染色を行った結果、K5.Stat3C/LDLR KO マウスにおいて、表皮の肥厚が認められ、乾癬様皮膚炎の存在が確認された。その時の大動脈起始部において、オイルレッド O 染色したところ、LDLR KO マウスに比べ、K5.Stat3C/LDLR KO マウスにおいて、有意なプラーク面積の増加が認められ ($0.071 \pm 0.02 \text{ mm}^2$ vs $0.112 \pm 0.02 \text{ mm}^2$; $p < 0.05$) (図2)、乾癬様皮膚炎の存在により、動脈硬化が悪化することが示唆された。血清脂質を測定したところ、LDLR KO マウスと K5.Stat3C/LDLR KO マウスにおいて、TG、TC、CM+VLDL-C、LDL-C、HDL-C に差はみられなかった。

図2. 乾癬様皮膚炎は動脈硬化プラーク面積を増加させる



血清脂質に差が見られなかったことから、乾癬様皮膚炎による動脈硬化悪化のメカニズムを調べるために、血清中の炎症性サイトカインをELISAにて測定したところ、LDLR KO マウスに比べ

図3. 乾癬様皮膚炎は炎症性サイトカインを増加させる



K5.Stat3C/LDLR KO マウスにおいて、血清中の TNF-α が有意に増加した ($10.6 \pm 1.18 \text{ pg/ml}$ vs $12.0 \pm 0.61 \text{ pg/ml}$; $p < 0.01$) (図3)。血清中の IL-

17は、有意差はないものの増加傾向を示した。この血清中の炎症性サイトカインの増加が乾癬様皮膚炎の病変部から分泌されたものかどうかを解析するために、耳介の mRNA 発現を qPCR にて測定した。その結果、K5.Stat3C/LDLR KO マウスにおいて LDLR KO マウスに比べ、耳介の *Il17f*、

Il22 mRNA発現が有意に増加し、*Tnfa*, *Il17a*, *Il6*, *Il1b* mRNAは増加傾向を示した (図3)。

これらの結果から、乾癬様皮膚炎により、炎症性サイトカインの増加を介して動脈硬化が悪化される可能性が示唆された。これらの研究成果の発表については現在、論文執筆中である。

今回の研究により、乾癬様皮膚炎の存在は、肝臓のマクロファージの増加を引き起こすことによる脂肪肝炎の悪化、並びに心血管には、血清中の TNF- α などの炎症性サイトカインを増加させることにより動脈硬化が促進される可能性が示唆された。この、臓器間の慢性炎症のクロストークの悪循環を断ち切るために、炎症性サイトカインの減弱をターゲットにした新規治療法を提案する。

(引用文献)

- (1) Risk of non-alcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis, *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015; 29: 656-662
- (2) Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis, *JAMA.* 2006; 296: 1735
- (3) High-Fat Diet-Induced IL-17A Exacerbates Psoriasiform Dermatitis in a Mouse Model of Steatohepatitis, *Am J Pathol.* 2016; 186: 2292-2301
- (4) Imiquimod induced ApoE-deficient mice might be a composite animal model for the study of psoriasis and dyslipideamia comorbidity, *J Dermatol Sci.* 2017; 88: 20-28
- (5) Epicutaneous application of toll-like receptor 7 agonists leads to systemic autoimmunity in wild-type mice: a new model of systemic Lupus erythematosus, *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66: 694-706
- (6) Stat3 links activated keratinocytes and immunocytes required for development of psoriasis in a novel transgenic mouse model, *Nat. Med.* 2005; 11: 43-19

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Saga Ayami, Koseki Masahiro, Kanno Kotaro, Chang Jiuyang, Higo Tomoaki, Okuzaki Daisuke, Okada Takeshi, Inui Hiroyasu, Asaji Masumi, Tanaka Katsunao, Omatsu Takashi, Nishihara Sae, Zhu Yinghong, Ito Kaori, Hattori Hiroaki, Ichi Ikuyo, Kamada Yoshihiro, Nishida Makoto, Yamashita Shizuya, Sakata Yasushi	4. 巻 23
2. 論文標題 A Dietary Oxysterol, 7-Ketocholesterol, Exacerbates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Dermatitis in Steatohepatic Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15855 ~ 15855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232415855	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 Tanaka Katsunao, Koseki Masahiro, Kato Hisashi, Miyashita Kazuya, Okada Takeshi, Kanno Kotaro, Saga Ayami, Chang Jiuyang, Omatsu Takashi, Inui Hiroyasu, Ohama Tohru, Nishida Makoto, Yamashita Shizuya, Sakata Yasushi	4. 巻 29
2. 論文標題 Anti-GPIHBP1 Antibody-Positive Autoimmune Hyperchylomicronemia and Immune Thrombocytopenia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	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) 10.5551/jat.63348	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 Kanno Kotaro, Koseki Masahiro, Chang Jiuyang, Saga Ayami, Inui Hiroyasu, Okada Takeshi, Tanaka Katsunao, Asaji Masumi, Zhu Yinghong, Ide Seiko, Saito Shigeyoshi, Higo Tomoaki, Okuzaki Daisuke, Ohama Tohru, Nishida Makoto, Kamada Yoshihiro, Ono Masafumi, Saibara Toshiji, Yamashita Shizuya, Sakata Yasushi	4. 巻 12
2. 論文標題 Pemafibrate suppresses NLRP3 inflammasome activation in the liver and heart in a novel mouse model of steatohepatitis-related cardiomyopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-06542-8	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 Inui Hiroyasu, Nishida Makoto, Ichii Michiko, Nakaoka Hajime, Asaji Masumi, Ide Seiko, Saito Shigeyoshi, Saga Ayami, Omatsu Takashi, Tanaka Katsunao, Kanno Kotaro, Chang Jiuyang, Ohama Tohru, Koseki Masahiro, Yamashita Shizuya, Sakata Yasushi	4. 巻 176
2. 論文標題 XCR1+ conventional dendritic cell-induced CD4+ T helper 1 cell activation exacerbates cardiac remodeling after ischemic myocardial injury	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology	6. 最初と最後の頁 68 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.yjmcc.2023.01.011	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 嵯峨礼美, 小関正博, 冠野昂太郎, 常久洋, 田中克尚, 朝治真澄, 岡田健志, 鎌田佳宏, 乾洋勉, 朱穎竝, 大濱透, 西田誠, 山下静也, 坂田泰史
2. 発表標題 食餌由来7-ketocholesterolはイミキモド誘導乾癬様皮膚炎を憎悪させる
3. 学会等名 第63回 日本脂質生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 嵯峨礼美, 小関正博, 冠野昂太郎, 常久洋, 田中克尚, 尾松卓, 朝治真澄, 岡田健志, 鎌田佳宏, 乾洋勉, 朱穎こう, 大濱透, 西田誠, 山下静也, 坂田泰史
2. 発表標題 7-ketocholesterolは食餌誘導性脂肪肝炎モデルマウスにおいて乾癬様皮膚炎を促進させる
3. 学会等名 第53回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Saga A, Koseki M, Kanno K, Chang J, Tanaka K, Omatsu T, Nishihara S, Asaji M, Okada T, Kamada Y, Zhu Y, Inui H, Ohama T, Nishida M, Yamashita S, Sakata Y
2. 発表標題 7-ketocholesterol exacerbates psoriasis-like dermatitis in diet-induced steatosis mice
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原紗恵、小関正博、田中克尚、尾松卓、嵯峨礼美、冠野昂太郎、常久洋、大濱透、西田誠、坂田泰史
2. 発表標題 脂肪肝モデルマウスにおける、糖・脂質異常症治療薬の作用メカニズム
3. 学会等名 第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西原紗恵、小関正博、田中克尚、尾松卓、嵯峨礼美、乾洋勉、大濱透、西田誠、坂田泰史
2. 発表標題 食事誘導性脂肪肝モデルマウスにおけるトホグリフロジンの肝臓内脂質に及ぼす影響の検討
3. 学会等名 第55回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ayami Saga, Masahiro Koseki, Hiroshi Sawabe, Sae Nishihara, Takashi Omatsu, Katsunao Tanaka, Takeshi Okada, Hiroyasu Inui, Tohru Ohama, Makoto Nishida, Yasushi Sakata
2. 発表標題 The Existence of Psoriasis-like Dermatitis Promotes Atherosclerosis in Mice
3. 学会等名 第88回 日本循環器学会総会
4. 発表年 2024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
---------	---------