

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月22日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791078

研究課題名（和文） 難治性皮膚疾患・乾癬の免疫病態解析

研究課題名（英文） Approaches to the pathogenesis of psoriasis, an intractable human skin disorder

研究代表者

毛利 安宏 (MOURI YASUHIRO)

徳島大学・疾患酵素学研究センター・助教

研究者番号：80464353

研究成果の概要（和文）：乾癬は原因不明の難治性皮膚疾患である。本症の病態に自己免疫の機序が関与しているか否かは明確ではない。Corneodesmosin (CDSN)欠損マウスの皮膚病変がヒトの乾癬と類似することを踏まえ、CDSN欠損マウスの皮膚を移植したレシピエントマウスに抗IL-22中和抗体を投与する実験を行った。その結果、抗IL-22中和抗体投与マウスとコントロール抗体投与マウスとの間で皮膚病変に明らかな差異を認めなかった。今後は、Th17系の炎症性サイトカインであるIL-23の関与についても検討する必要がある。

研究成果の概要（英文）：Psoriasis is an intractable skin disorder whose pathogenesis is unknown. It is not clear whether autoimmunity is involved in the pathogenesis of psoriasis. Because corneodesmosin (CDSN)-deficient mice show the skin phenotypes resembling human psoriasis, we administered neutralizing antibody against IL-22 into the recipient mice grafted with CDSN-deficient skin. We found no obvious changes in the skin phenotypes by the injection of anti-IL-22 neutralizing antibody. We also need to see, however, whether the concomitant administration of neutralizing antibody against IL-23, a Th17 inflammatory cytokine, would show the same results in order to know to determine further the autoimmune features of psoriasis in the future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：乾癬、サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

私どもは乾癬の疾患感受性遺伝子の一つと目されている *CDSN* の機能解析、および乾癬の病態解析に *CDSN* 欠損マウスの作製が必須と考え *CDSN* 欠損マウスを作製し、その性状について解析した。その要点は、1) *CDSN* 欠損マウスの表皮は角質ケラチノサイトの接着障害によって角質層が容易に剥

離・脱落し、マウスは生後早期に死亡する。このことから、角質デスモゾームの構成分子 *CDSN* が表皮の恒常性維持に必須であることが初めて明らかとなった。しかしながら、より重要な発見は、2) *CDSN* 欠損皮膚をヌードマウスの背部に移植し、*CDSN* 欠損皮膚の変化を長期に観察したところ、表皮の著明な肥厚、錯角化、表皮への炎症細胞浸潤とい

ったヒトの乾癬にきわめて類似した病理組織所見を認めたことである。また、これらのケラチノサイトにおいては乾癬に認められる Stat3 の活性化も観察された。このことから、CDSN は単にケラチノサイト間の接着を担うのみならず、ケラチノサイトの生物学的機能にも重要な役割をもち、その機能障害が乾癬病態に何らかの役割をはたしていることが明確になった。しかしながら、私どもの得た結果は乾癬の病態に表皮ケラチノサイトが一義的に重要で、乾癬病態における免疫系の関与は付随的であるということの意味しない。例えば、近年、乾癬の病態に IL-22 や IL-23 といった Th17 系の炎症性サイトカインが深く関与することが報告されており、そのメカニズムとしてケラチノサイトの機能障害が免疫系の異常活性化を引き起こし、それによって炎症反応が惹起される可能性も考えられる。

2. 研究の目的

私どもは、乾癬病態における表皮ケラチノサイトの役割を明らかにしたいと考えて CDSN 遺伝子欠損マウスを作製し、CDSN を介するケラチノサイト要因の存在を示すことに成功した。しかしながら、このことは乾癬が自己免疫疾患であることを否定するものではない。

乾癬は近年、我国でも生活の欧米化にともない患者数が急速に増加しつつある原因不明の難治性皮膚疾患である。乾癬についての大きな問題点は、本症が原因不明で、かつ T 細胞が関与するというだけで確固たる証拠が無いにもかかわらず、いつのまにか自己免疫疾患の範疇に入れられてしまっていることである。すなわち、本症が真に自己免疫疾患であるか否かの検証は十分になされていない。

他方、AIRE は胸腺上皮細胞に発現する転写調節因子であり、単一の遺伝子異常によって中枢性トレランスが破綻することから、AIRE 遺伝子の機能解明によって胸腺における自己寛容の成立機構の実態を明らかにすることができる。これに対して CDSN 欠損マウスが乾癬様の皮膚病変を示したことは、皮膚ケラチノサイトの側に乾癬の発症原因を求めることも可能だが、そのような場合にも免疫細胞の関与が否定された訳ではなく、CDSN 遺伝子異常による皮膚ケラチノサイトの生物学的性状の変化を免疫細胞が感知し、CDSN 欠損皮膚ケラチノサイトを非自己として攻撃するという自己免疫病態を想定することもできる。

以上の状況を踏まえ、本研究では、非典型的な自己免疫病態である乾癬のモデルである CDSN 欠損マウスの病態に、自己寛容の成立機構がどのように関わっているかを検討

する。具体的には、CDSN 欠損皮膚をヌードマウスに移植した際に見られる乾癬様病態に Th17 サイトカインがどのように関与しているかを調べることを主目的とした。

3. 研究の方法

レシビエントマウスとして T 細胞を欠損するヌードマウスを用い、CDSN 欠損マウスおよび対照マウスから採取した皮膚を移植する。こうして皮膚移植を受けたレシビエントマウスに、IL-22 や IL-23 に対する中和抗体を隔日投与した(150 µg/mouse、腹腔内投与)。移植から 4 週間後、IL-22 や IL-23 に対する中和抗体を投与した群と非投与群から移植皮膚組織を採取し、免疫病理組織学的評価を行った。

4. 研究成果

表皮ケラチノサイトに発現し、かつ乾癬の疾患感受性遺伝子である corneodesmosin (CDSN) 遺伝子の生理的機能を明らかにする目的で CDSN 欠損マウスを作製したところ、CDSN 欠損マウスの表皮は角質ケラチノサイトの接着障害によって角質層が容易に剥離・脱落し、マウスは生後早期に死亡した。このことから、角質デスモゾームの構成分子 CDSN が表皮の角化のプロセスを制御し、皮膚バリアー機能に必須の役割をもつことが初めて明らかとなった。さらに、CDSN 欠損皮膚をヌードマウスの背部に移植して CDSN 欠損皮膚の変化を長期に観察したところ、表皮の著明な肥厚、錯角化、表皮への炎症細胞浸潤といったヒトの乾癬に類似する病理組織所見を認めた。そこで、これらの病態プロセスに炎症性サイトカインがどのように関わっているかを明らかにする目的で、IL-22 に対する中和抗体を CDSN 欠損皮膚を移植したヌードマウスに投与し、その効果を病理学的に検討した。皮膚移植部の肉眼的観察では、IL-22 中和抗体投与マウスとコントロール抗体投与マウスとの間で明らかな差異を認めなかった。すなわち、両群マウスともに移植皮膚部の膨隆と毛の脱落を認めた。続いて移植皮膚片を回収し、involucrin、loricrin、keratin 10 (K10) 等に対する抗体を用いた免疫組織染色によって皮膚の形成状態を評価したところ、IL-22 中和抗体投与マウスにおいてはコントロール抗体投与マウスと比較し、明らかに表皮形成状態が良好であった。今後は IL-12/IL-23 の共通構成要素である p40 に対する中和抗体との併用効果についても検討したい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Mouri, Y., Yano, M., Shinzawa, M., Shimo, Y., Hirota, F., Nishikawa, Y., Nii, T., Kiyonari, H., Abe, T., Uehara, H., Izumi, K., Tamada, K., Chen, L., Penninger, J.M., Inoue, J., Akiyama, T., and Matsumoto, M.

Lymphotoxin signal promotes thymic organogenesis by eliciting RANK expression in the embryonic thymic stroma.

J. Immunol. (査読有り) 186: 2011, 5047-5057.

doi: 10.4049/jimmunol.1003533.

② Nishikawa, Y., Hirota, F., Yano, M., Kitajima, H., Miyazaki, J-i., Kawamoto, H., Mouri, Y., and Matsumoto, M.

Biphasic Aire expression in early embryos and in medullary thymic epithelial cells before end-stage terminal differentiation.

J. Exp. Med. (査読有り) 207: 2010, 963-971. doi: 10.1084/jem.20092144.

[学会発表] (計 12 件)

① Mouri, Y., Nishikawa, Y., Nishijima, H., and Matsumoto, M.

Differential requirement of Aire in two transgenic models for the negative selection of autoreactive thymocytes against self-antigens.

第41回日本免疫学会総会、2012. 12. 6、神戸国際会議場 (神戸市)

② Matsumoto, M., Nishikawa, Y., Mouri, Y., Hirota F., and Nishijima, H.

Temporal fate-mapping reveals essential roles of Aire in the maturation program of mTECs.

ThymUS 2012, November 4-9, 2012, Trump International Beach Resort, Sunny Isles

Beach, USA.

③ 毛利安宏、西川裕美子、西嶋 仁、松本 満
モデル自己抗原遺伝子導入トランジェニック
マウスを用いたAire依存的負の選択機構
の解析

第22回 Kyoto T Cell Conference、2012. 7. 6、
和順会館 (京都市)

④ 西嶋 仁、毛利安宏、西川裕美子、松本
満

AIRE遺伝子を導入したHeLa細胞における細胞
周期依存的なAIREタンパク質のリン酸化
第40回日本免疫学会総会、2011. 11. 27、幕張
メッセ (千葉市)

⑤ 毛利安宏、西川裕美子、西嶋 仁、松本
満

Negative selectionにおけるAire発現細胞
由来自己抗原の役割

第40回日本免疫学会総会、2011. 11. 27、幕
張メッセ (千葉市)

⑥ Matsumoto, M., Mouri, Y., Nishikawa,
Y., and Nishijima, H.

Role of self-antigen expressed by
Aire-expressing cells in the negative
selection process.

5th International Conference on
Autoimmunity: Mechanisms and Novel
Treatments, September 23-28, 2011,
Knossos Royal Village Conference Center,
Hersonissos, Crete, Greece.

⑦ Matsumoto, M., Nishikawa, Y., Mouri,
Y., and Nishijima, H.

Aire-dependent organization of thymic
microenvironment for the establishment of
self tolerance.

EUThyme-Rolduc Meeting, May 21-24, 2011,
NH Conference Center, Leeuwenhorst, The
Netherlands.

⑧ Mouri, Y., Yano, M., Shinzawa, M., Shimo, Y., Nishikawa, Y., Tamada, K., Chen, L., Penninger, J.M., Inoue, J., Akiyama, T., and Matsumoto, M.

Lymphotoxin signal promotes thymic organogenesis by eliciting RANK expression in the embryonic thymic stroma.

13th International TNF Conference, TNF 2011, May 15-18, 2011, Awaji Yumebutai International Conference Center (淡路市)

⑨ Nishikawa, Y., Mouri, Y., Nishijima, H., and Matsumoto, M.

Aire-dependent organization of thymic microenvironment for the establishment of self-tolerance.

ESF-JSPS Frontier Science Conference Series for Young Researchers

「Cutting Edge Immunology and its Clinical Application」

March 1-6, 2011, Apollo Hotel de Beyaerd, Hulshort, The Netherlands.

⑩ Mouri, Y., Nishikawa, Y., and Matsumoto, M.

Aire in thymic epithelial cells in the medulla controls developmental process of thymocytes.

14th International Congress of Immunology August 24, 2010, Kobe Portopia Hotel (神戸市)

⑪ Nishikawa, Y., Mouri, Y., and Matsumoto, M.

Biphasic Aire expression in early embryos and in medullary thymic epithelial cells prior to end-stage terminal differentiation.

14th International Congress of Immunology

August 23, 2010, Kobe Portopia Hotel (神戸市)

⑫ Matsumoto, M., Nishikawa, Y., Hirota, F. and Mouri, Y.

AIRE and autoimmune disease.

The 19th International Rheumatology Symposium, April 23, 2010, Kobe Portopia Hotel (神戸市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

毛利 安宏 (MOURI YASUHIRO)

徳島大学・疾患酵素学研究センター・助教
研究者番号：80464353

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：