

アトピー性皮膚炎におけるインターロイキン 17A の果たす役割の検討

研究分担者 宮地良樹 京都大学医学研究科皮膚科学 教授
研究協力者 椋島健治 京都大学医学研究科皮膚科学 准教授
中島沙恵子 京都大学医学研究科皮膚科学 研究員

研究要旨 フィラグリン遺伝子の発見以降、アトピー性皮膚炎（Atopic Dermatitis, AD）の病態において、バリア破壊による刺激性皮膚炎の側面が注目されている。一方で、免疫細胞によるアレルギー性皮膚炎という側面も、AD の病態を理解する上で非常に重要である。しかしながら、バリア破壊以降の詳細な起炎機序は不明であり、Th2 以外の T 細胞サブセットや皮膚樹状細胞の関与が示唆されているものの、その詳細は未だ不明である。

インターロイキン 17A（Interleukin-17A, IL-17A）は主に Th17 細胞から分泌される炎症性サイトカインの一つで、慢性関節リウマチや乾癬などの疾患の病態に関与している。我々はこれまでに、AD 患者の末梢血中の Th17 細胞のパーセンテージが疾患重症度と相関すること、また急性期病変部における IL-17A 産生細胞が慢性期病変部や健常皮膚と比較して増加していることを報告してきた（Koga et al. *JID*, 128, 2625–2630, 2008）。このことから、IL-17A は AD の病態に関与していることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで、本研究では AD における IL-17A の果たす役割を検討することを目的とし、IL-17A 欠損マウス、マウス AD モデルを用いて検討を行った。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎（Atopic Dermatitis, AD）は幼少期に始まり、顔面などの特徴的な部位に皮疹を生じ、掻痒を伴い慢性の経過をとる湿疹病変と定義される。近年バリア異常による刺激性皮膚炎の側面が強調され始めている一方、病変部での Th2 の活性化による好酸球増多・高 IgE 血症を伴うことが多く、アレルギー性炎症の性格も持ち合わせている。しかしながら、バリア破壊以降の詳細な起炎機序は不明であり、Th2 以外の T 細胞サブセットや皮膚樹状細胞の関与が示唆されているものの、その詳細は未だ不明である。

インターロイキン 17A（Interleukin-17A, IL-17A）は主に Th17 細胞から分泌される炎症性サイトカインの一つで、慢性関節リウマチや乾癬などの疾患の病態に関与している。Th17 細胞が病態の中核を成しているとされる乾癬とは異なり、AD における Th17 細胞、IL-17A 産生細胞の関与については不明であった。我々はこれまでに、AD 患者の末梢血中の Th17 細胞のパーセンテージが疾患重症度と相関すること、また急性期病変部における IL-17A 産生細胞が慢性期病変部や健常皮膚と比較して増加していることを報告してきた（Koga et al. *JID*, 128, 2625–2630, 2008）。このことから、IL-17A はアトピー性皮膚炎の病態に関与していることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは不明であった。

そこで、本研究では AD における IL-17A の果たす役割を、マウス AD モデルおよび IL-17A 欠損マウスを用いて検討することを目的とする。

B. 研究方法

IL-17A 欠損マウスと野生型マウスにマウス AD モデルを適用し、IL-17A の AD 病態に果たす役割を詳細に検討する。マウス AD モデルとしてハプテン反復塗布モデル、およびフィラグリン遺伝子変異を有する Flaky tail マウスを用いる。

（倫理面への配慮）

組換え DNA 実験は、遺伝子組換え生物などの使用の規制による生物多様性の確保に関する法律と京都大学組換え DNA 実験安全管理規定に従って行う。マウスを使用する実験は、ヘルシンキ宣言に従い、日本実験動物協会が定める「実験動物の飼養及び保管などに関する基準」に記載されている方法により、また、京都大学動物実験及び飼育倫理審査にて承認されたプロトコル（承認番号 080150）に則り遂行する。遺伝子改変動物の取り扱いにおいては、第二種使用等拡散防止措置確認申請を行い、そのプロトコルに従って研究を遂行する。臨床検体を用いる研究では、京都大学の医の倫理委員会に申請し承認を得ており（承認番号 E778 番）、研究に参加していただく作業者には文書および口頭で今回の研究内容についての説明を行い、承諾書（検体の取り扱い・個人情報の保護・解析結果の公表・解析後の検体の取り扱い、協力した場合の利益・不利益などに関する項目など）を得た後に研究を遂行した。

C. 研究結果

ハプテン反復塗布モデルにおいて、IL-17A 欠損マウスは野生型マウスと比較して耳介腫脹の軽減を認めた。さらに、IL-17A 欠損マウスは、組織スコアの低下、血清中の抗原特異的 IgE/IgG1 産生の低下、所属リンパ節での IL-4 産生の低下を認めた(図 1-A、B、C)。IL-17A 欠損マウスの皮膚局所では Th2 誘導に重要なケモカインである TSLP (thymic stromal lymphopoietin) や CCL17 (TARC) の産生低下を認めた。IL-17A は、*in vitro* において Th2 細胞の IL-4 産生を促進した。このことから IL-17A がハプテン反復塗布モデルにおいて Th2 誘導に促進的に作用していることが示唆された。さらに、このモデルにおける IL-17A 産生細胞をフローサイトメトリーにて解析したところ、所属リンパ節では V γ 4 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞が、また皮膚では真皮 $\gamma\delta$ T 細胞がその主な産生源であった。次に、IL-17A 欠損マウスと flaky tail マウス(C57BL/6 にバッククロスしたもの)を交配し、flaky tail マウスでの IL-17A の果たす役割を検討した。Flaky tail マウスは、フィラグリン遺伝子異常を有し、皮膚炎や血清中の IgE 上昇を自然発症するマウスである (Moniaga CS et al. Am J Pathol.2010)。IL-17A 欠損 flaky tail マウスは、flaky tail マウスと比較して、皮膚炎の軽減やクリニカルスコアの低下、血清中の IgE 産生の低下を認めた (図 2 - A、B)。

D. 考察

IL-17A はマウス AD モデルにおいて、病変部および所属リンパ節において Th2 促進的に作用することが示された。*In vitro* においても IL-17A は Th2 細胞の IL-4 産生ならびに B 細胞の IgE 産生を促進した。また、IL-17A の主な産生細胞は $\gamma\delta$ T 細胞であった。表皮での IL-17A 産生 $\gamma\delta$ T 細胞は真皮 $\gamma\delta$ T 細胞であったことから、真皮 $\gamma\delta$ T 細胞が表皮に侵入し IL-17A を産生している可能性が示唆された。

E. 結論

IL-17A はマウス AD モデルにおいて Th2 誘導に促進的に作用した。IL-17A は AD の新規治療ターゲットとなり得ることが期待される。

G. 研究発表

- 1) Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Ito T, Nakamura M, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Influence of Th2 cells on hair cycle/growth after repeated cutaneous application of haptens. *Clin Exp Dermatol*. 2013 Nov 22.
- 2) Ono S, Nakajima S, Otsuka A, Miyachi Y, Kabashima K. Pigmented purpuric dermatitis with high expression levels of serum TARC/CCL17 and

epidermal TSLP. *Eur J Dermatol*. 2013 Oct 30.

- 3) Sugita K, Ikenouchi-Sugita A, Nakayama Y, Yoshioka H, Nomura T, Sakabe J, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production. *Sci Rep*. 2013 Oct 17;3:2973.
- 4) Otsuka A, Doi H, Egawa G, Maekawa A, Fujita T, Nakamizo S, Nakashima C, Nakajima S, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K. Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep 19.
- 5) Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Prostaglandin E2-EP3 axis in fine-tuning excessive skin inflammation by restricting dendritic cell functions. *PLoS One*. 2013 Jul 29;8(7):e69599.
- 6) Akagi A, Kitoh A, Moniaga CS, Fujimoto A, Fujikawa H, Shimomura Y, Miyachi Y, Kabashima K. Case of Netherton syndrome with an elevated serum thymus and activation-regulated chemokine level. *J Dermatol*. 2013 Sep;40(9):752-3.
- 7) Otsuka A, Nakajima S, Kubo M, Egawa G, Honda T, Kitoh A, Nomura T, Hanakawa S, Sagita Moniaga C, Kim B, Matsuoka S, Watanabe T, Miyachi Y, Kabashima K. Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nat Commun*. 2013;4:1739.
- 8) Nomura T, Kayama T, Okamura E, Ogino K, Uji A, Yoshimura N, Kikuchi T, Fujisawa A, Tanioka M, Miyachi Y, Kabashima K. Severe atopic dermatitis accompanied by autoimmune retinopathy. *Eur J Dermatol*. 2013 Apr 1;23(2):263-4.
- 9) Egawa G, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K. Skin tape

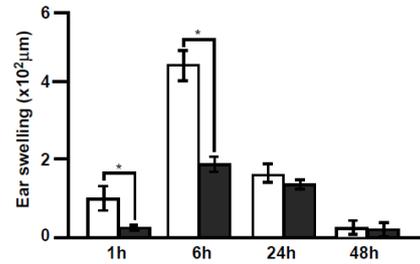
10) stripping and cheek swab method for a detection of filaggrin. *J Dermatol Sci.* 2013 Mar;69(3):263-5.

11) Moniaga CS, Jeong SK, Egawa G, Nakajima S, Hara-Chikuma M, Jeon JE, Lee SH, Hibino T, Miyachi Y, Kabashima K. Protease activity enhances production of thymic stromal lymphopoietin and basophil cumulation in flaky tail mice. *Am J Pathol.* 2013 Mar;182(3):841-51.

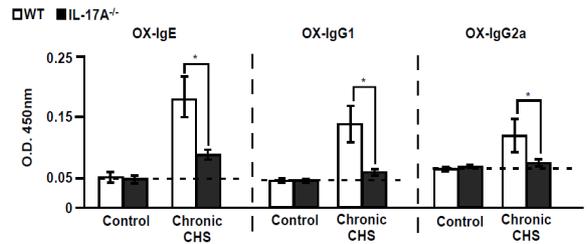
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当せず

図 1

A ハプテン反復塗布モデルにおける耳介腫脹の推移(野生型マウス、IL-17A 欠損マウス)



B 抗原特異的免疫グロブリン産生量(血清中)



C サイトカイン産生(皮膚・所属リンパ節)

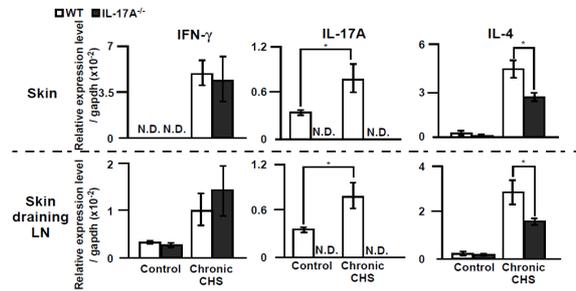


図 2

A IL-17A 欠損 Flaky tail マウスの臨床像と臨床スコア

IL-17A^{+/+} IL-17A^{-/-}



B 血清総 IgE 産生量

