

高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎の発症機構の解明

峯岸 克行

徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター病態プロテオゲノム分野

研究要旨

高 IgE 症候群は、アトピー性皮膚炎・血清 IgE の著しい高値と、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎を特徴とする原発性免疫不全症である。その主要な原因が STAT3 の遺伝子変異であることは明らかになったが、その病態形成機構には依然不明な点が多い。今回我々は、そのアトピー性皮膚炎の発症機構を解明する目的で、STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを用いて、アトピー性皮膚炎のモデルを作製した。ハプテン反復塗布により誘発する皮膚炎において、モデルマウスにおいて皮膚組織の肥厚、CD4 陽性 T 細胞と好酸球の皮膚炎局所への浸潤がより増強し、ハプテン特異的血清 IgE、Th1/Th2 サイトカインがより上昇した。卵白アルブミンの塗布による皮膚炎モデルにおいても同様の所見を認めた。これらの皮膚炎モデルは、高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎の発症機構の解明に有用である可能性が示唆された。

A. 研究の目的

高 IgE 症候群は、アトピー性皮膚炎・血清 IgE の著しい高値を呈し、高頻度に黄色ブドウ球菌による皮膚と肺の感染症を合併する原発性免疫不全症である。その原因が STAT3 遺伝子のドミナントネガティブ(dominant negative; DN)変異であることが近年明らかになった。高 IgE 症候群では、そのほぼ全例でアトピー性皮膚炎と高 IgE 血症を発症する。すなわち、ヒトにおける STAT3 の機能低下はアトピー性皮膚炎と高 IgE 血症を引き起こす。しかし、STAT3-DN 変異がどのようなメカニズムでこれらのアトピー症状を発症するかは現時点では世界的にも全く明らかにされておらず、そのため本症のアトピーには、対症療法以外の治療法は存在しない。また、一般のアトピー性皮膚炎では、高頻度で黄色ブドウ球菌が常在しており、高 IgE 症候群のアトピー性皮膚炎発症と黄色ブドウ球菌感染症とに関連がある可能性がある。本研究では、STAT3-DN により発症するアトピー性皮膚炎の発症機構を解明し、その新規の治療法を開発することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

我々が樹立した STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを用いて、各種の皮膚炎誘発モデルの検討を行った。このモデルマウスにおいては、高 IgE 血症が自然に発症し、Th17 サイトカインの産生低下が見られ、黄色ブドウ球菌による皮膚感染症を自然発症し、アトピー性皮膚炎は SPF 環境下では自然発症しないことが明らかになっている。そのため、各種の誘発性皮膚炎の検討を行った。具体的には、1) ハプテン単回投与による皮膚炎モデル、2) ハプテン反復投与による皮膚炎モデル、3) 卵白アルブミン (ovalbumin; OVA)塗布による皮膚炎モデルの検討を行った。

ハプテン単回投与による皮膚炎では、day -6 にハプテンを剃毛したマウス腹部に塗布・感作し、day 0 に片側耳介にハプテンを、もう一方の耳介に溶媒のみを塗布、耳介腫脹を(ハプテンを塗布した耳介の厚さ) - (溶媒を塗布した耳介の厚さ)として測定した。ハプテン反復投与による皮膚炎モデルでは、day -6 にハプテンを腹部に塗布感作し、day 0 より隔日で 10 回耳介にハプテンを塗布した。卵白アルブミン塗布による皮膚炎モデルでは、マウスの背部を剃毛後、テープストリッピングにより上皮角層バ

リアを傷害し、OVA を塗布後ドレッシングを 1 週間継続、これを 2 週間あけて 3 回繰り返した。これらの炎症誘発操作後に皮膚よりコラゲナーゼ処理により皮膚局所の細胞を取り出し、その細胞表面形質を検討し、さらにその細胞のサイトカインやケモカイン産生を測定した。

C. 研究結果

1. ハプテン単回投与による皮膚炎モデルの検討

マウスをハプテンで感作し、片側耳介にハプテン塗布、対側耳介に溶媒を塗布し、1 日後の耳介腫脹を測定すると、Stat3-DN マウスでは野生型マウスと比較してハプテン塗布側の耳介腫脹は軽度だった。この時の Stat3-DN マウスの皮膚局所においては、IFN の産生は同等であったが、IL-17 の産生が低下していた。このため、T 細胞の産生する Th17 サイトカインの低下が、耳介の腫脹の軽減を引き起こしている可能性が考えられた。このことは、STAT3 の遺伝子異常を有する高 IgE 症候群患児においては、接触性皮膚炎は発症しにくい可能性を示唆していると考えられた。

2. ハプテン反復投与による皮膚炎モデルの検討

マウスをハプテンで感作し、片側耳介にハプテンを対側耳介に溶媒を隔日で継続塗布すると、ハプテン塗布 4 回後までは Stat3-DN マウスで野生型マウスと比較して耳介腫脹は軽度だったが、それ以降では Stat3-DN マウスで野生型マウスより増強していた。組織学的には、角質、表皮には明らかな相違は認めなかったが、真皮への細胞浸潤が Stat3-DN マウスで増強していた。また、経皮水分蒸散量により評価した表皮バリア機能も Stat3-DN マウスでより低下していた。皮膚浸潤細胞を比較すると、Stat3-DN マウスにおいて、CD4 陽性 T 細胞、好酸球、好塩基球の皮膚炎局所への浸潤の増加と好中球の細胞浸潤の低下が認められた。これらの細胞の産生する Th1 と Th2 のいずれのサイトカインも増加していた。また、CXCL9, CXCL10 などの Th1 ケ

モカイン、CCX17, CCL22, CCL5 などの Th2 ケモカインが Stat3-DN マウスで増加していた。さらに、Stat3-DN マウスでは、抗原特異的血清 IgE 濃度の上昇も認められ、全体として Th2 型の皮膚炎が誘導されているものと考えられた。このモデルマウスで見られた細胞浸潤、表皮バリア機能の低下、サイトカイン、ケモカイン、免疫グロブリン産生のパターンはヒトのアトピー性皮膚炎とよく一致していた。

3. 卵白アルブミンの塗布による皮膚炎モデルの検討

テープによる表皮細胞の剥離後に卵白アルブミンをテガダーム保護下に 1 週間塗布、これを 2 週間間隔で 3 回繰り返す皮膚炎誘導モデル (epicutaneous OVA sensitization model) においても同様の検討を行った。このモデルにおいても、Stat3-DN マウスにおいて CD4 陽性 T 細胞、好酸球、好塩基球の皮膚炎局所への浸潤の増加、表皮バリア機能の低下、Th1 と Th2 のいずれのサイトカイン、CXCL9, CXCL10 などの Th1 ケモカイン、CCX17, CCL22, CCL5 などの Th2 ケモカインがいずれも増強・上昇していた。

D. 考察

STAT3 のドミナントネガティブ変異により発症する高 IgE 症候群は、アトピー性皮膚炎と高 IgE 血症の合併が臨床的特徴であるが、その病態形成機構は不明で、治療も対症療法に限られていた。今回の我々の検討により、高 IgE 症候群においては、ハプテン反復投与による皮膚炎モデルと卵白アルブミンの塗布による皮膚炎モデルがヒトのアトピー性皮膚炎と類似した病態を形成することが明らかになった。今後この皮膚炎モデルと各種の遺伝子改変マウスを用いて、その病態形成機構を明らかにしていく。

E. 結論

本研究により、高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎発症メカニズムを検討するために必要なモデル皮膚炎を確立した。今後、このモデルを用いて、各種の遺伝子改変マウス(T細胞とB細胞を欠損する Rag2 欠損マウス、B細胞を欠損する μ MT マウス、高親和性 IgE レセプターを欠損する Fc RI 欠損マウス、マスト細胞を欠損する Kit^{w-sh/w-sh} マウス、好塩基球を欠失する Mcpt8-DTR マウス等)と Stat3-DN マウスを交配し、このマウスを用いて我々の確立した皮膚炎モデルの検討を行い、Stat3-DN とアトピー性皮膚炎の関係を明らかにする。

F. 研究発表

1. 学会発表

1. Minegishi Y "A Molecular Mechanism of Hyper IgE Syndrome" The 2nd symposium of the University of Tokushima "Immune system development, deviation, and regulation" Nichia Medical Hall, Tokushima University, Tokushima, Jan 24-25, 2013
2. Minegishi Y "A Molecular Mechanism of Hyper IgE Syndrome" The 4th Japanese Society of Hematology "Dysfunction and Neoplasia of lymphocytes" Yamatoya Honten, Ehime, May 24-25, 2013
3. 峯岸克行 アレルギーを合併する免疫不全症 高 IgE 症候群の病因と病態 第 116 回日本小児科学会学術集会 2013 年 4 月 21 日 広島シンポジウム Primary immunodeficiency 2013 update; Current topics and new concepts
4. 峯岸克行 アトピー性皮膚炎を合併する免疫難病の病態解明 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2013 年 12 月 1 日 金沢

2. 論文発表

1. Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Inflammatory monocytes recruited to allergen-exposed skin acquire an anti-inflammatory property via basophil-derived IL-4. *Immunity* 38, 570-580, 2013
2. Obata-Ninomiya K, Ishiwata K, Tsutsui H, Nei Y, Yoshikawa S, Kawano Y, Minegishi Y, Ohta N, Watanabe N, Kanuka H, Karasuyama H. The skin is an important bulwark of acquired immunity against intestinal helminthes. *J Exp Med* 210, 2583-2595, 2013
3. 峯岸克行 STAT3 の異常によるアトピー性皮膚炎の発症機序 臨床・免疫アレルギー科 59, 160-164, 2013
4. 峯岸克行 高 IgE 症候群の最近の話題 Medical Science Digest 39, 7-8, 2013
5. 峯岸克行 抗体産生不全症 B細胞不全症 小児科診療 76 419-423, 2013
6. 峯岸克行 朝倉書店内科学 第 10 版 原発性免疫不全症 1371-1378 総編集 矢崎義男
7. 峯岸克行 Jak-Stat シグナルとアレルギー制御 実験医学 31, 113-117, 2013
8. 峯岸克行 高 IgE 症候群に見られる易感染性 化学療法の領域 29, 2429-2434, 2013
9. 峯岸克行 小児内科 高 IgE 症候群 45, 1146-1147, 2013

G. 知的財産権の出願登録状況

該当なし