

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

薬疹における腫瘍壊死因子の役割に関する研究

分担協力者 野村 尚史 京都大学大学院医学研究科 特定准教授  
研究研究者 梶島 健治 京都大学大学院医学研究科 教授  
研究協力者 中島沙恵子 京都大学大学院医学研究科 講師

**研究要旨** 重症多形滲出性紅斑に代表される重症薬疹の特徴は、広範囲にわたる表皮角化細胞の壊死である。腫瘍壊死因子（TNF） $\alpha$  は表皮角化細胞のアポトーシスを誘導し、重症薬疹患者皮膚で高発現するが、薬疹におけるその役割は不明な点が多い。本研究では、重症薬疹における TNF  $\alpha$  の役割を解明するため、皮膚特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）依存性に皮膚炎を誘導するマウスモデルを構築した。病変部を解析したところ、重症薬疹と類似の炎症が惹起されることを確認した。今後、このモデルを用いて重症薬疹における TNF  $\alpha$  の役割を検討する予定である。

#### A. 研究目的

重症薬疹における腫瘍壊死因子（TNF） $\alpha$  の役割を明らかにするため、本研究では、重症薬疹を模倣するマウス皮膚炎モデルを作成した。

#### B. 研究方法

皮膚特異的に膜型鶏卵アルブミン（mOVA）を発現するマウス（Iv1-mOVA マウス）のコロニーを樹立した。Iv1-mOVA マウスは、表皮角化細胞で発現するインボルクリン遺伝子のプロモーターの直下に、mOVA 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスである。このマウスの表皮は mOVA を恒常的に発現する。

Iv1-mOVA マウスに、OVA を特異的に認識する CD8<sup>+</sup>T 細胞（OTI）を移入した。

移入後のマウス皮膚炎の重症度、皮膚炎症部位の細胞構成、移入した OTI 細胞の動態を解析した。

#### （倫理面への配慮）

マウスは人道的に飼育し、検体を採取する場合は、麻酔下を実施し、苦痛を伴わないよう配慮した。マウスを屠殺する場合も安楽死を用いた。

#### C. 研究結果

OTI 細胞を移入した Iv1-mOVA マウスは、移入第 7 日ごろから全身の皮膚炎が顕在化し、第 10 日から第 14 日にかけて、衰弱が

顕著となった。衰弱の著しい個体は安楽死させた。

耳介皮膚を共焦点顕微鏡で観察したところ、移入第 3 日の時点で、OTI 細胞の皮膚浸潤を確認した。

皮膚炎部位を免疫染色で検討したところ、TNF  $\alpha$  が表皮および真皮に高レベルに発現していた。フローサイトメトリーで解析したところ、真皮線維芽細胞、非毛包系ケラチノサイトが TNF  $\alpha$  を高発現する傾向があった。

Iv1-mOVA マウスの遺伝的背景を TNF  $\alpha$  欠損型とすると、炎症を抑制できた。

#### D. 考察

Iv1-mOVA マウスへの OTI 細胞移入により、重症薬疹と類似する皮膚炎を誘導することに成功した。このモデルは、重症多形滲出性紅斑やスティーヴンス・ジョンソン症候群などの重症薬疹のモデルとして使用可能と考える。

Iv1-mOVA マウスの遺伝子背景を TNF  $\alpha$  欠損型とすると、OTI 細胞移入による皮膚炎とマウスの衰弱を完全に抑制されることから、Iv1-mOVA マウスが産生する TNF  $\alpha$  が、皮膚炎の増悪に重要な役割を果たすことがわかった。

非毛包系ケラチノサイトと真皮線維芽細胞が TNF  $\alpha$  を高発現する傾向にあった。ヒト重症薬疹患者の病変部においても、これ

らの細胞系譜がより高レベルの TNF $\alpha$  を発現しているかは、今後検討する予定である。

## E. 結論

マウス重症薬疹モデルの樹立に成功した。非毛包系ケラチノサイトおよび真皮線維芽細胞が産生する TNF $\alpha$  が、重度の皮膚炎を惹起すると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Otake-Irie H, Nakajima S, Okamoto N, Toichi E, Nomura T, Kabashima K: Prolonged acute generalized exanthematous pustulosis and atypical target-like lesions induced by hydroxychloroquine. J Dermatol. 2020;47(11):e387-e388
2. Komatsu-Fujii T, Nakajima S, Iwata M, Kataoka T, Hirata M, Nomura T, Kabashima K: Upregulated programmed death ligand 1 expression in nivolumab-induced lichen nitidus: A follow-up report with an immunohistochemical analysis. J Dermatol. 2020;47(9):e319-e320
3. Honda Y, Ono S, Honda T, Kataoka TR, Egawa G, Kitoh A, Otsuka A, Nakajima S, Nomura T, Dainichi T, Kabashima K: Murine neonatal skin mast cells are phenotypically immature and minimally sensitized with transplacentally transferred IgE. J Allergy Clin Immunol. 2019;144(2):617-620
4. Hama N, Nishimura K, Hasegawa A, Yuki A, Kume H, Adachi J, Kinoshita M, Ogawa Y, Nakajima S, Nomura T, Watanabe H, Mizukawa Y, Tomonaga T, Shimizu H, Abe R: Galectin-7 as a

potential biomarker of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: identification by targeted proteomics using causative drug-exposed peripheral blood cells. J Allergy Clin Immunol Pract. 2019;7(8):2894-2897

## 2. 書籍

1. なし

## 3. 学会発表

1. Toshiya Miyake, Gyohei Egawa, Kenji Kabashima. Tumor necrosis factor-alpha plays pivotal role in cytotoxic T lymphocyte-induced dermatitis. The 45<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2020. Web-conference. P10-08 (C10-05).

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし