

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  
研究協力者 椛島 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 特定准教授  
研究協力者 三宅 俊哉 京都大学大学院医学研究科 助教

**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 5 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解析では、真皮線維芽細胞、非毛包系ケラチノサイトが TNF  $\alpha$  を高発現する傾向を認めた。

Iv1-mOVA マウスの遺伝的背景を TNF  $\alpha$  欠損型とすると、炎症の改善が早まり、マウスの個体死を抑制できた。OTI 細胞の遺伝的背景を TNF  $\alpha$  欠損型とすると惹起される炎症が減弱した。

またエタネルセプトで TNF  $\alpha$  シグナルを遮断すると、炎症が減弱し、個体死を抑制できた。

**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の改善が早まり、マウスの衰弱が抑制されることから、Iv1-mOVA マウスが産生する TNF $\alpha$  が、皮膚炎の増悪や維持に重要な役割を果たすことがわかった。

TNF $\alpha$  は、非毛包系ケラチノサイトと真皮線維芽細胞が高発現することがわかった。

エタネルセプトが、本モデルの重症皮膚炎を減弱させ個体死を抑制したことから、エタネルセプトによる TNF $\alpha$  シグナルの遮断が、重症皮膚炎の有力な治療選択肢となると考えた。

## 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、皮膚炎の重症化に大きく寄与することを確認した。

エタネルセプトによる TNF $\alpha$  シグナルの遮断は、重症皮膚炎の新規治療標的となり得る。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Nakagawa Y, Egawa G, Miyake T, Nakajima S, Otsuka A, Nomura T, Kitoh A, Dainichi T, Sakabe JI, Shibaki A, Tokura Y, Honda T, Kabashima K. A Phenotypic Analysis of Involucrin-Membrane-Bound Ovalbumin Mice after Adoptive Transfer of Ovalbumin-Specific CD8<sup>+</sup> T Cells. JID Innov. 2022 Mar 30;2(5):100127. doi: 10.1016/j.xjidi.2022.100127. PMID: 36090298; PMCID: PMC9460514.
2. Sunaga Y, Hama N, Ochiai H, Kokaze A, Lee ES, Watanabe H, Kurosawa M, Azukizawa H, Asada H, Watanabe Y,

Yamaguchi Y, Aihara M, Mizukawa Y, Ohyama M, Abe R, Hashizume H, Nakajima S, Nomura T, Kabashima K, Tohyama M, Takahashi H, Mieno H, Ueta M, Sotozono C, Niihara H, Morita E, Sueki H. Risk factors for sepsis and effects of pretreatment with systemic steroid therapy for underlying condition in SJS/TEN patients: Results of a nationwide cross-sectional survey in 489 Japanese patients. J Dermatol Sci. 2022 Aug;107(2):75-81. doi: 10.1016/j.jdermsci.2022.07.004. Epub 2022 Jul 13. PMID: 35882616.

## 2. 学会発表

1. The 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. C07-02 [P01-06] Tumor necrosis factor-alpha plays pivotal role in both the induction and maintenance of murine GVHD-like dermatitis model Toshiya Miyake, Gyohei Egawa, Satoshi Nakamizo, Kenji Kabashima. Department of Dermatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto
- 2.

## 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