

加齢によるマウス炎症性皮膚疾患モデルの病態解析

[1] 組織

代表者：森川 ありさ
(名古屋市立大学薬学研究科)

対応者：小笠原 康悦
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：肥田 重明 (名古屋市立大学)
北野 拓真 (名古屋市立大学)
藤岡 直人 (名古屋市立大学)

研究費：物件費 18 万円

[2] 研究経過

加齢に伴う免疫制御の分子機構についてはほとんど明らかになっていない。それ故、自発性慢性炎症のモデル動物の病態解析や治療法の開発は、近年ますますその重要性を増している。本共同研究では、組織特異的な慢性炎症の分子メカニズムを明らかにすることを目的として研究を行った。

IFN 制御因子 (IRF: regulatory factor) の欠損マウスでは、10 週齢で脱毛、20 週齢で潰瘍ができるなど、加齢に伴い炎症性皮膚炎が発症し、慢性炎症の病態を呈する。申請者らのグループは、これまでに、このモデルマウスを用いてサイトカインの観点から皮膚炎症の研究を進めてきた(Hida et al. *Immunity* 2000)。しかしながら、炎症の皮膚特異性や標的細胞認識機構などの情報は明らかになっていない。申請者らは、IFN システムに重要な IRF 転写因子が生体の様々な炎症恒常性維持に重要な役割を果たしていることに注目し、I 型 IFN システムの破綻が T 細胞依存的な炎症性皮膚を発症させることを明らかにした。現在、皮膚炎発症の詳細な分子機序を明らかにするために、免疫細胞で重要な役割を果たす種々の免疫細胞・受容体および転写因子の関与について、二重、三重遺伝子欠損マウスを作成し、皮膚炎発症と進行について解析する計画を立てた。

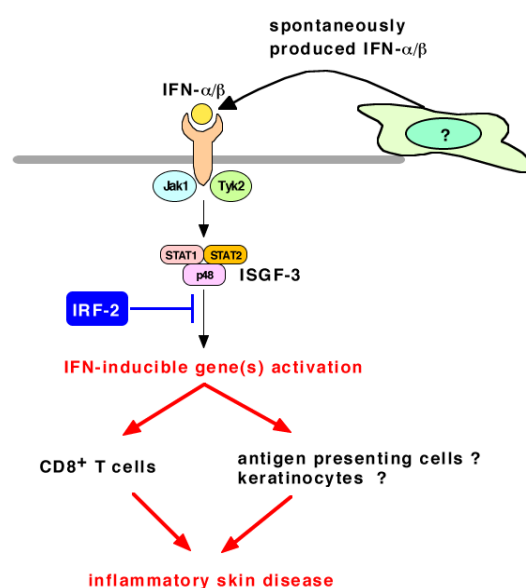
また IRF2^{−/−} マウスの皮膚炎発症には、CD8⁺ T 細胞が重要な役割を果たすことをすでに報告している

(Hida et al. *Immunity* 2000)。そこで T 細胞に着目して、共同研究先である貴学東北大学加齢医学研究所 (小笠原康悦 教授) と協力して、さらに詳細な T 細胞の受容体の解析を行った。申請者らが開発した遺伝子特異的非バイアス増幅法 (WO2016136716) を用いて T 細胞受容体 (TCR) を非バイアスで増幅して、塩基配列を決定する。この情報から、皮膚特異的な T 細胞受容体の遺伝子配列を決定する。この皮膚特異的な TCR の情報をもとに様々な皮膚疾患での TCR の発現を検討し、新しい創薬の標的としての可能性についても検証を行う。

さらに皮膚常在菌である黄色ブドウ球菌由来分子による皮膚炎症への関与を明らかにするために、免疫機能に影響することが明らかになった黄色ブドウ球菌の菌体成分、分泌成分を抽出し、接種することでその影響を評価する。

(共同研究打ち合わせ等の開催状況)

研究成果については 2 週間に一度受け入れ側である加齢研生体防御学の小笠原康悦教授と研究計画と進行状況について議論を行っている。



[3] 成果

(3-1) 研究成果

これまでに CD8⁺ T 細胞の活性化に関与する免疫分子機構を解析するために、本年度は、TLR2, TLR4, Pycard, AhR などの遺伝子変異マウスと IRF2 との二重・三重遺伝子変異マウスを作成した。しかしながら、これらの遺伝子変異マウスは皮膚炎発症に差は認められなかったことから、TLR2, TLR4, インフラマソームや AhR などの免疫センサー分子は、関与していない可能性が高い。さらに T 細胞の TCR β 鎖のパターンに大きな変化が認められなかったが、既知の TCR-トランスジェニックマウスと IRF2^{-/-} の交配で皮膚炎発症が遅れたことから、炎症を惹起する T 細胞クローンが存在することが示唆された。現在、種々の二重遺伝子欠損マウスなどを用いて、皮膚組織から得られた cDNA から T 細胞の受容体の解析を行っている。また、加齢に伴う炎症の変化を明らかにするために若年と加齢マウスの比較も行い、皮膚疾患の発症と進行について分子機構を解析中である。

また近年、アトピー性皮膚炎などでは、皮膚常在細菌である黄色ブドウ球菌の関与が示唆されている。細菌由来分子による皮膚炎症への関与を明らかにするために、細菌由来分泌物質のリコンビナントタンパク質を作成し、免疫細胞の活性化について解析をおこなった。その結果、α 毒素や SSL (Staphylococcal superantigen-like) ファミリー分子が、マスト細胞を活性化させ皮膚炎に影響することを明らかにした。

(3-2) 波及効果と発展性など

自己免疫疾患やアレルギー性疾患などの慢性炎症性疾患の発症とその病態の進行に関与する免疫の分子機構はほとんど明らかになっていない。さらに炎症性疾患は遺伝的背景のみならず、常在細菌を含めた様々な環境因子などの相互作用が複雑に影響していると考えられている。

本共同研究は、学外研究者との交流によって、飛躍的に活性化し、また、本共同研究で明らかになった皮膚発症に関与する特異的 CD8⁺ T 細胞の存在を明らかにした研究成果は、慢性炎症性疾患の治療への応用という研究領域への発展が期待される。

[4] 成果資料

1. Staphylococcal α-hemolysin does not induce cell damage in murine mast cells but it augments the degranulation induced by FcεRI cross-linking and ionomycin.; Hayashi K, Itoh S, Morikawa A, Onozaki K, Taki S,

Tsuji T, Hida S., *Biochem Biophys Res Commun.* 508:263-269(2019).

2. Staphylococcal superantigen-like 12 activates murine bone marrow derived mast cells.; Kobayashi M, Kitano T, Nishiyama S, Sanjo H, Onozaki K, Taki S, Itoh S, Hida S., *Biochem Biophys Res Commun.* 511:350-355(2018).

3. Fascin1 suppresses RIG-I-like receptor signaling and interferon-β production by associating with IκB kinase α (IKK α) in colon cancer.; Matsumura T, Hida S., Kitazawa M, Fujii C., Kobayashi A., Takeoka M., Taniguchi SI, Miyagawa SI., *J.Biol.Chem.* 293:6326-6336(2018).