

課題番号 34

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：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 15 万円

[2] 研究経過

加齢に伴う免疫制御機構の分子機構についてはほとんど明らかになっていない。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、昨年引き続き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 (IFN regulatory factor) 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、皮膚炎症の発症と進行について解析する計画を立てた。

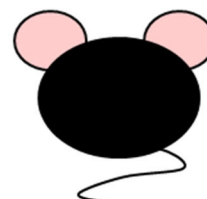
以下、研究活動状況の概要を示す。

本年度は、新型コロナウイルスの蔓延により、東北大学への来学による共同研究打ち合わせはできなかった。そのため、e-mail や電話、web ミーティングを活用して2か月に1度程度の頻度で研究打ち合わせを

行った。また、新型コロナウイルスによる研究自粛期間もあったことから、研究の進捗状況は当初計画どおりにはなっていない。

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進めることにした(実験1)。また、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、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こととした。研究概要を図1に示す。

実験1



マウスより
組織、細胞を単離

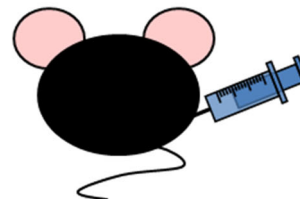
T細胞遺伝子構造頻度解析

実験2

常在菌
(黄色ブドウ球菌)採取

黄色ブドウ球菌
菌体成分抽出

マウスに接種



評価

図1 実験の概要

T細胞受容体解析の実験の流れを図2で示す。

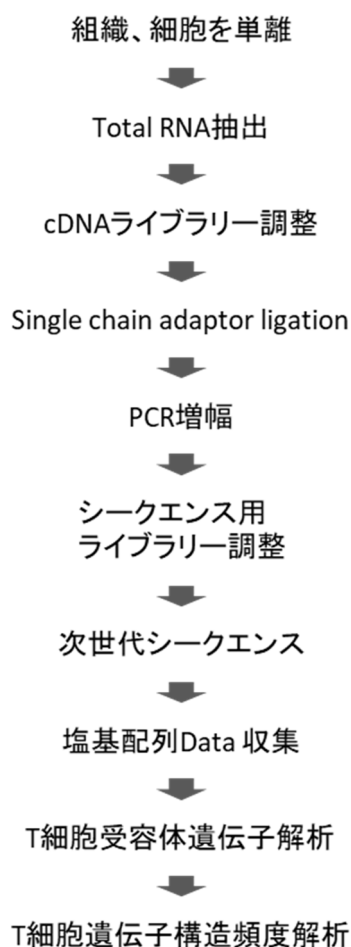


図2 T細胞受容体解析実験の流れ

[3] 成果

(3-1) 研究成果

T細胞受容体解析において、野生型マウスでは、通常観察されるT細胞受容体 α 鎖、TRAV11を主とした受容体レパートリーが観察された。遺伝子欠損マウスを用いた解析では、T細胞受容体にある一定の偏りがみられ、特異的T細胞受容体が存在している可能性が示された。しかしながら、サンプル数が思うように得られなかったため、今後、サンプル数を増やして解析を進め、統計的に有意差があるか否かをさらに検討する必要がある。

また黄色ブドウ球菌由来分子群のリコンビナントタンパク質を作製し、マスト細胞および好塩基球を用いて、化学伝達分子と炎症性サイトカインの分泌誘導能を指標にスクリーニングを行った。その結果、

Staphylococcal superantigen-like 12 (SSL12) が脱顆粒やIL-4, IL-13産生をIgE非依存的に誘導することを明らかにした。マウスを用いたin vivoでも炎症を惹起したことから、アトピー性皮膚炎との関連性が示唆された。現在、植物由来物質を用いた炎症抑制治療薬のスクリーニングも平行して行っている。

(3-2) 波及効果と発展性など

これまで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。そのため、本研究は大きな意味をもつ。さらに近年、常在細菌と疾患との関連性が注目されているが、炎症を惹起する黄色ブドウ球菌由来分子を明らかにした。常在細菌が炎症性皮膚炎の発症や慢性化に関与する可能性があり、新しい治療標的にもなると考えている。

本共同研究は、学外研究者との相互交流によって、飛躍的に活性化することができた。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。さらに共同研究を進め、慢性炎症性疾患の新しい治療標的の探索、さらに治療薬の開発に向けて努力したい。

[4] 成果資料

1. Staphylococcal superantigen-like 12 induces the production of interleukin 4 in murine basophils.; Nishiyama S, Urabe A, Morikawa A, Kobayashi M, Onozaki K, Itoh S, Hida S., *Biochem Biophys Res Commun.* 532:200-204(2020).
2. Anti-Inflammatory Activity of Kurarinone Involves Induction of HO-1 via the KEAP1/Nrf2 Pathway.; Nishikawa, Inoue Y, Hori Y, Miyajima C, Morishita D, Ohoka N, Hida S, Makino T, Hayashi H., *Antioxidants* (Basel). 9:842(2020)