

論文の内容の要旨

論文題目 乾癬の病態における ICAM-1, L-selectin の役割の検討

氏名 三井 彩

乾癬とは、表皮細胞の過形成と白血球の多数の浸潤を生じる慢性炎症性の自己免疫疾患であり、細胞接着分子は乾癬の病態形成において重要な役割を果たしている。病変部皮膚へ白血球が浸潤する過程は、細胞接着分子の発現により制御されている。白血球が血管外へ漏出する際、まず皮膚の血管内皮細胞によって捕獲(capture)され、血管に沿って転がり(rolling)、固着する(firm adhesion)。その後、血管内皮細胞を通り抜け(transmigration)、血管孔へと遊出し(diapedesis)、皮膚へと浸潤する。ここで細胞接着分子のうちセレクトインファミリーと呼ばれる Lセレクトイン(CD62L)、Eセレクトイン(CD62E)、Pセレクトイン(CD62P)は、初めの内皮細胞での capture と rolling に関与し、inter-cellular adhesion molecule(ICAM)-1 などの免疫グロブリンスーパーファミリーと、そのリガンドであるインテグリンは、その後の強固な接着に関し重要な役割を果たしている。Eセレクトイン、Pセレクトイン、ICAM-1 は主に血管内皮細胞に発現しており、Lセレクトインはほぼ全ての白血球に発現している。

トール様受容体 7/8 のリガンドであるイミキモドをマウスに外用すると、表皮肥厚、錯角化、様々な炎症細胞浸潤を生じ、乾癬様の皮疹が誘発されることから、イミキモド外用マウスが近年乾癬のモデルマウスとして使用されている。そこで今回、乾癬の病態における ICAM-1 と Lセレクトインの役割の検討を行う目的で、ICAM-1 欠損マウス、Lセレクトイン欠損マウス、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスにイミキモドを外用することにより乾癬様皮疹を誘発し、臨床、組織学的に検討した。

野生型、ICAM-1 欠損マウス、Lセレクトイン欠損マウス、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスの剃毛した背部皮膚および右耳に、6日間連続してイミキモドを外用し、皮疹の重症度(紅斑、鱗屑、表皮肥厚を 0 から 4 点で点数化し合計)、浮腫による耳の厚さ、表皮肥厚の程度について比較検討した。臨床的に ICAM-1 欠損マウスおよび Lセレクトイン欠損マウスでは野生型と比べ軽症であったが、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスでは野生型より重症であり、耳の厚さも厚くなり、組織学的に表皮も肥厚していた。浸潤細胞数は、野生型と比較し ICAM-1 欠損マウスおよび Lセレクトイン欠損マウスで減少していたのに対し、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスでは増加していた。イミキモド外用 3 日目の皮膚の MHC-class II 陽性抗原提示細胞および CD3 陽性 T 細胞の数を比較したところ、MHC-class II 陽性細胞数は野生型と比較し、ICAM-1 欠損マウスで減少、Lセレクトイン欠損マウスとは差がなく、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスでは増加していた。CD3 陽性 T 細胞数は、ICAM-1 欠損マウスと Lセレクトイン欠損マウスでは減少していたが、Lセレクトイン/ICAM-1 欠損マウスでは野生型と差はなかった。

次に、乾癬の悪化に関わる IL-17A, IL-23, TNF α の皮膚での発現を調べるため、イミキモド

外用 2 日目および 4 日目のマウス背部の皮膚から単離した mRNA を用いて、リアルタイム PCR を行った。2 日目において、IL-17A の発現は ICAM-1 欠損マウスと L セレクチン欠損マウスで野生型と比較し低下しており、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスと野生型の間に差はなかった。しかし 4 日目では、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスでの IL-17A の発現は増加していた。IL-23, TNF α についても、4 日目で L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスで野生型と比較し増加がみられた。乾癬患者の皮膚における IL-23 と TNF α の主な産生細胞は抗原提示細胞であることがわかっており、この結果は、イミキモド外用 3 日後の L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスの皮膚で MHC-class II 陽性細胞が増加していたことと合致した。また IL-23 および TNF α の発現増加に加え、IL-17A の発現が L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスにおける乾癬様皮疹の悪化に関与していると考えられた。炎症抑制に関わる制御性 T 細胞由来のサイトカイン、IL-10 と TGF β についても検討したが、いずれも各マウス間に差はなかった。

さらに L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスで総浸潤細胞数、抗原提示細胞数の増加が、他の細胞接着分子の代償性の発現増加による可能性について調べた。具体的にはイミキモド外用 4 日目の皮膚での E セレクチン、ESL-1、P セレクチン、PSGL-1 の mRNA レベルでの発現をリアルタイム PCR 法にて比較検討した。野生型と比較し、イミキモド外用後の皮膚では E セレクチン、ESL-1 の mRNA 発現が増加した。P セレクチン、PSGL-1 の発現に野生型と差はなかった。以上より、ICAM-1 および L セレクチンが同時に欠損した状態でイミキモドを外用すると、E セレクチンおよび ESL-1 の代償的な発現増加がみられることがわかった。さらに、イミキモド外用 2 日目の皮膚での E セレクチン陽性細胞数を検討したところ、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスで他のマウスと比べ増加しており、リアルタイム PCR の結果と合致した。

E セレクチンおよび ESL-1 の発現増加が L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスでのイミキモド誘発性乾癬様皮疹の増悪に関与していることを検討する目的で、200 μ g の抗 E セレクチン抗体あるいはコントロール IgG 抗体をイミキモド外用 1 日前と 3 日目に腹腔内投与した。コントロール IgG 抗体を投与したマウスと比較し、抗 E セレクチン抗体を投与したマウスでイミキモド外用 6 日目の臨床所見の改善がみられたため、イミキモド誘発性乾癬様皮疹の悪化に E セレクチンが関与していることが示された。

乾癬の治療には抗 TNF α 抗体が使用される。イミキモド誘発性乾癬様皮疹に対する抗 TNF α 抗体の効果をみるため、200 μ g の抗 TNF α 抗体あるいはコントロール IgG 抗体を、イミキモド外用 1 日前と 3 日目に腹腔内投与した。抗 TNF α 抗体投与により、野生型、ICAM-1 欠損マウス、L セレクチン欠損マウスではほぼ皮疹が消失したが、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスでは皮疹が残存した。抗 TNF α 抗体を 400 μ g に増量したところ皮疹は改善したことから、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスの皮疹は、野生型の倍量の抗 TNF α 抗体が必要な難治な皮疹となっていることが示された。

以上、まず、ICAM-1 欠損マウスと L セレクチン欠損マウスでイミキモド誘発性乾癬様皮疹が軽症となったことから、ICAM-1 および L セレクチンが乾癬の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられた。一方、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスでは皮疹の増強がみられた。

その理由として、血管内皮細胞での E セレクチンの代償性増加により、ESL を発現する抗原提示細胞の浸潤が促進され、続いて抗原提示細胞から産生される IL-23, TNF α , IL-17A が増加することで皮疹が悪化したと考えられた。E セレクチンは、実際の乾癬患者の病変皮膚で発現が増加していることが報告されているが、本実験の結果から、この E セレクチンの発現増加が乾癬増悪に関わっている可能性も示唆された。最後に抗 TNF α 抗体を投与した際、L セレクチン/ICAM-1 欠損マウスでは、乾癬様の皮疹を消失させるのに他のマウスと比べ倍量を要した。これは、E セレクチンや ESL-1 のような他の細胞接着分子の発現が増加したことにより、病変部皮膚で TNF α を産生する抗原提示細胞が増加したためと考えられた。

乾癬の皮膚の炎症に対する細胞接着分子の機能的な役割は、他の細胞接着分子の発現により変化すると考えられる。そのため、乾癬に対し特定の細胞接着分子をターゲットにした治療の効果は、臨床試験や乾癬モデルマウスを用いた実験を行わないとわからず、予測は困難である。乾癬の治療として、細胞接着分子に対する抗体は有効かもしれないが、同時に複数の因子を阻害してしまうと他の因子の代償的増加を生じ、かえって皮疹の悪化を惹起させる可能性のあることが本実験で示された。