

課題番号 : 25指103
研究課題名 : 新規モデルマウスを用いた乾癬の病因、病態の解析および新規治療法の開発
主任研究者名 : 鈴木春巳
分担研究者名 : 土肥多恵子、高木智

キーワード : 乾癬、慢性皮膚疾患、Th17 細胞

研究成果 : 我々はT細胞シグナル伝達に関わる因子である RhoH を欠損するマウスが、BALB/c 背景において乾癬様の慢性皮膚炎を自然発症することを見出した。これまでに、炎症部位に Th17 細胞が浸潤し Th17 関連サイトカインが過剰産生されていることを見出している。Th17 細胞の増加は皮膚炎症状を示す前から亢進しており、また RhoH 欠損 Th17 細胞を RAG 欠損マウスに移入しただけで病態が再現出来ることから、Th17 細胞の増加が乾癬症状の原因であることが示唆された。実際、*in vitro* においても RhoH 欠損ナイーブ T 細胞は Th17 分化が亢進しており、T 細胞内で RhoH が欠失することにより Th17 への分化が増強することが明らかとなった。この分子機構についてはシグナル伝達を中心に現在解析を進めている。また、乾癬に対する IL-22BP の治療効果を検討する目的で、リコンビナント IL-22BP-Fc 融合蛋白を大量精製し、RhoH 欠損マウスに静脈内投与したところ、乾癬症状が有意に抑制された。従って、IL-22BP 蛋白が乾癬に対する治療薬として利用出来る可能性を示した。

Subject No. : 25-103

Title : Analysis of pathogenesis and progression of psoriasis by utilizing novel psoriasis mouse model.

Researchers : Harumi Suzuki, Taeko Dohi, Satoshi Takaki

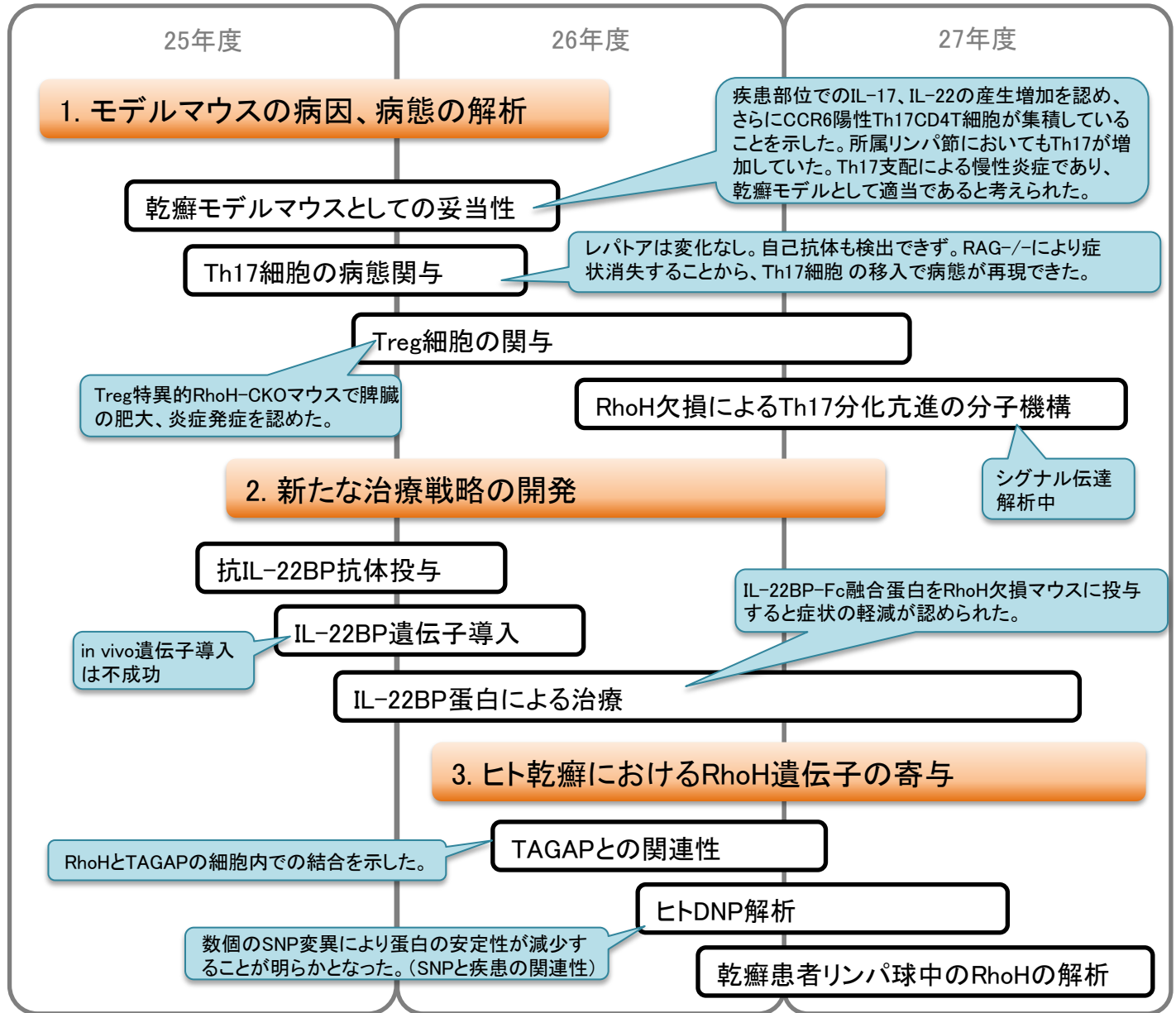
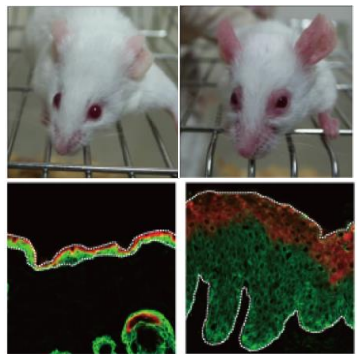
Key word : psoriasis, Th17 cells, chronic dermatitis

Abstract : RhoH, a hematopoietic lineage cell specific atypical small GTPase, functions as an adaptor for ZAP70, Syk, and lck, therefore plays an important role on development and activation of T cells. We found that RhoH deficient mice spontaneously developed psoriasis-like chronic dermatitis with age in BALB/c background. We have found that Th17 cells were infiltrated in inflamed skin tissue and thus Th17 responses were dominated. This year, we found that increased Th17 cells in RhoH-KO mice was observed even before disease progression, and transfer of Th17 cells from RhoH-KO mice into RAG-KO normal mice restored psoriasis-like dermatitis, indicating that increased Th17 cells in RhoH-KO mice was major cause of the disease. Indeed, RhoH-deficient naive CD4 T cells showed augmented induction of Th17 cells in vitro, demonstrating that this Th17 polarization was T cell intrinsic. We are now seeking molecular mechanism why RhoH deficiency causes Th17 polarization. To test the effect of IL-22BP against psoriasis, we prepared IL-22BP-Fc fusion protein by affinity purification, and confirmed the binding of IL-22 to the protein. Intra-venous introduction of the IL-22BP-Fc into the RhoH deficient mice inhibited dermatitis progression, indicating that IL-22BP could be a good candidate for novel anti-psoriasis drug.

年次計画と達成状況

RhoH欠損マウス

RhoH+/+ RhoH-/-



25-26年度の成果

1. モデルマウスの 病因、病態の解析

炎症部位でTh17応答が亢進し、Th17細胞の移入により病態が再現できた(病因)。
RhoH欠損によりTh17配向性が亢進する(乾癬発症とは無関係)。



2. 新たな治療戦略の 開発

IL-22BP-Fc融合蛋白を精製し、結合活性を確認。
IL-22BP蛋白投与によりRhoH欠損マウスの乾癬症状が軽減した。



3. ヒト乾癬における RhoH遺伝子の寄与

RhoHのヒトSNP変異体は蛋白の安定性が低下(ユビキチン依存性)。
乾癬患者の末梢血単核球でのRhoH発現は今のところ健常人と有意差なし。
ヒトTh17細胞においてRhoH発現が低下していることを発見。



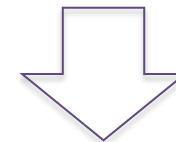
27年度の計画

RhoH欠損によるTh17分化亢進の分子メカニズムを検討。TGF β /smadシグナル、IL-6/STATシグナル、ROR γ tの発現制御などに着目する。

予防効果は実証されたが、乾癬発症後でのIL-22BP投与でも症状は軽減されるか(治療効果は?)

症例数を増やし、特定の病態、進行度と相関が出るか検討

Th17細胞でRhoH発現が低下する生理的意義を検討する。



乾癬発症機序の解明と新規治療法の開発

課題番号 : 25指103
研究課題名 : 乾癬モデルマウスにおけるT細胞分化、活性化の解析
主任研究者名 : 鈴木春巳
分担研究者名 : 鈴木春巳

キーワード : 乾癬、Th17、RhoH

研究成果 : 我々はT細胞シグナル伝達に関わる因子であるRhoHを欠損するマウスが、BALB/c背景において乾癬様の慢性皮膚炎を自然発症することを見出した。この慢性皮膚炎が自己免疫疾患かを検討したが、自己抗体の存在を検討したところ、肝臓組織に反応するような自己抗体や他の部位での腸炎、膵炎、肝炎などの慢性炎症症状も認められず、広範に自己免疫症状を呈していることはないことがわかった。TCRVβ鎖のレパトアについても変化は見られなかった。昨年度はTregの関与についてさらに検討を進めた。RhoH欠損Treg細胞は、*in vitro*においては増殖抑制活性に変化は見られず、RhoHの欠損によりTregの機能が低下しているとは考えられなかった。そこで、foxP3-Cre、RhoH-Floxマウスを作製して、TregでだけRhoHを欠失させることに成功した。Treg特異的RhoH欠損マウスは、老齢になると局所的な皮膚炎を発症し、末梢リンパ組織の肥大がみられたが、乾癬様の症状は再現できなかった。従って、RhoHはTregの何らかの機能に関与してはいるが、RhoH欠損による乾癬の発症にはTregは殆ど関与していないものと考えられた。

課題番号 : 25指103
研究課題名 : 乾癬モデルマウスにおける慢性皮膚炎症の発症機序の解明
主任研究者名 : 鈴木春巳
分担研究者名 : 土肥多恵子

キーワード : 乾癬、炎症、RhoH

研究成果 : 我々はT細胞シグナル伝達に関わる因子である RhoH を欠損するマウスが、BALB/c 背景において乾癬様の慢性皮膚炎を自然発症することを見出した。炎症部位における詳細な解析を行い、多数の CD4T 細胞、特に Th17 型 (CCR6 陽性) の T 細胞が炎症部位に浸潤していることを示した CD8T 細胞、B 細胞、好中球などの浸潤はみられないが、樹状細胞は真皮、表皮へと浸潤していた。これに伴い、炎症皮膚組織において、IL-17, IL-22, IL-6 などの炎症性サイトカインが過剰に産生されていた。RhoH 欠損マウスに IL-22 欠損マウスを交配すると乾癬症状が見られなくなったことから、IL-22 の産生は疾患誘導に必須であることが明らかとなった。さらに、in vitro でのナイーブ T 細胞からの Th17 分化誘導系において、RhoH 欠損細胞で Th17 への分化亢進がみられた。従って、RhoH 欠損による Th17 分化亢進は、T 細胞レベルで直接的に起こっている現象であることがわかった。現在、この分子メカニズムを解明すべく、シグナル伝達を中心とした解析を進めている。

課題番号 : 25指103
研究課題名 : 乾癬モデルにおけるサイトカインを作用点とした治療戦略の開発
主任研究者名 : 鈴木春巳
分担研究者名 : 高木智

キーワード : 乾癬、IL-22BP、Th17 細胞

研究成果 : 本研究は RhoH 欠損マウスにおける乾癬様慢性皮膚炎モデルを対象として、乾癬の新規治療戦略の開発を目的とする。乾癬の病態形成において Th17 細胞による IL-23/IL-17/IL-22 軸の重要性が認識されており、実際に動物モデルにおいて抗 IL-17 抗体、抗 IL-22 抗体の治療効果が報告され、実用に向けて治験が進んでいる。本研究では、IL-22 の内在性可溶性デコイ受容体である IL-22BP (IL-22RA2) の、乾癬に対する治療効果についての基礎的な検討を行うことを目的とする。IL-22BP の乾癬治療に関する報告はまだない。昨年度までに IL-22BP-Fc 融合蛋白を 293 細胞の培養上清より精製して調製した。対照として IL-22 と結合しない変異体 (66A/118A) も同時に調製している。この精製 IL-22BP 蛋白は電気泳動にてシングルバンドを示し、サンドイッチウエスタン法により、IL-22 との結合を確認している。精製 IL-22BP を毎週 25ug 静脈投与し、RhoH 欠損マウスの尾静脈より毎週 100ug の精製蛋白を投与したところ、IL-22 と結合出来ない変異体では乾癬症状が誘導されたのに対し、野生型 IL-22BP 投与群では明らかに病態スコアが減少し、IL-22BP 投与が乾癬症状の緩和に効果的であることが示された。以上の結果より、IL-22BP 蛋白は乾癬に対する新規の治療方法の候補として有効であることが明らかとなった。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：25指103

新規モデルマウスを用いた乾癬の病因、病態の解析および新規新規モデルマウスを用いた乾癬の病因、病態の解析および新規

主任研究者名：鈴木春巳

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Overexpression of RhoH permits to bypass the pre-TCR checkpoint	Tamehiro N, Hiroyo Oda H, Shirai M, Suzuki H	PLoS ONE	10	2015
The thymic cortical epithelium determines the TCR repertoire of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells.	Nitta T, Muro R, Shimizu Y, Nitta S, Oda H, Ohte Y, T Goto M, Yanabu R, Narita T, Takayanagi H, Yasuda H, Okamura T, Murata S, Suzuki H.	EMBO Rep	16	2015
The Ras GTPase-activating protein Rasal3 supports survival of naive T cells.	Muro R, Nitta T, Okada T, Ideta H, Tsubata T, Suzuki H.	PLoS ONE	10	2015
Differential function of Themis CABIT domains during T cell development.	Okada T, Nitta T, Kaji K, Takashima A, Oda H, Tamehiro N, Goto M, Okamura T, Patrick MS, Suzuki H.	PLoS ONE	9	2014
Therapeutic adenoviral gene transfer of a glycosyltransferase for prevention of peritoneal dissemination and metastasis of gastric cancer.	Kawamura YI, Adachi Y, Curiel DT, Kawashima R, Kannagi R, Nishimoto N and Dohi T.	Cancer Gene Ther	21	2014
Retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 is associated with colitis but not tumors in a murine colitic cancer model	Otsubo T, Hagiwara T, Okamura T, Ishizaka Y, Kawamura YI, Dohi T	PLOS ONE	10	2015
Pathological activation of canonical nuclear-factor κ B by synergy of tumor necrosis factor α and TNF-like weak inducer of apoptosis in mouse acute colitis.	Dohi T, Kawashima R, Kawamura YI, Otsubo T, Hagiwara T, Amatucci A, Michaelson J, Burkly LC.	Cytokine	69	2014
Chemokine receptor CCR8 is required for lipopolysaccharide-triggered cytokine production in mouse peritoneal macrophages	Oshio T, Kawashima R, Kawamura YI, Hagiwara T, Mizutani N, Okada T, Otsubo T, Inagaki-Ohara K, Matsukawa A, Haga T, Kakuta S, Iwakura Y, Hosokawa S and Dohi T	PLOS ONE	9	2014
The epigenetic regulator Uhrfl facilitates functional expansion of colonic regulatory T cells.	Obata Y, Furusawa Y, Endo TA, Sharif J, Takahashi D, Onawa S, Fujimura Y, Takahashi M, Ikawa T, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Tajima S, Ohara O, Hori S, Ohno H, Koseki H, Hase K.	Nature Immunology	15	2014
Lnk/Sh2b3 controls the production and function of dendritic cells and regulates the induction of IFN- γ -producing T cells.	Mori T, Iwasaki Y, Seki Y, Iseki M, Katayama H, Yamamoto K, Takatsu K, Takaki S.	J Immunol	193	2014
Lnk prevents inflammatory CD8+ T-cell proliferation and contributes to intestinal homeostasis.	Katayama H, Mori T, Seki Y, Anraku M, Iseki M, Ikutani M, Iwasaki Y, Yoshida N, Takatsu K, Takaki S	Eur J Immunol	44	2014
Nov/CCN3 regulates long-term repopulating activity of murine hematopoietic stem cells via integrin α v β 3	Ishihara J, Umemoto T, Yamato M, Shiratsuchi Y, Takaki S, Petrich BG, Nakauchi H, Eto K, Kitamura T, Okano T	Int J Hematol	99	2014

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Themis regulates cytokine production in mature naive T cells	Okada T, Nitta T, Oda H, Tamehiro N, Patrick MS, Suzuki H	7th ThymOZ meeting	Helon Island, Australia	2014年4月
胸腺皮質上皮細胞による $\gamma\delta$ T細胞の分化制御	新田 剛、室 龍之介、新田 幸子、小田 浩代、鈴木 春巳	第24回 KTCC	京都	2014年6月
RhoH欠損マウスで認められる乾癬様皮膚炎の解析	爲廣紀正、小田浩代、鈴木春巳	第24回 KTCC	京都	2014年6月
Rasal3, a newly identified Ras GTPase activating protein is important for survival of naive T cells in the periphery	Muro R, Nitta T, Okada T, Tubata T, Suzuki H	第43回日本免疫学会総会	京都	2014年12月
Lnk/Sh2b3 adaptor protein controls cytokine responses of dendritic cells, and regulates the induction of IFN- γ -producing T cells .	Mori T, Iseki M, Takaki S.	第43回日本免疫学会学術集会	京都	2014年12月
IgM+ plasma cells contribute to the sufficient production of IgG by secreting IL-10 and IL-13.	Yamazaki N, Takaki S.	第43回日本免疫学会学術集会	京都	2014年12月
Lnk/Sh2b family adaptor protein Aps/Sh2b2 in B cells contributes to germinal center B cell survival and optimal IgE production in vivo.	Iseki M, Kudo F, Takaki S.	第43回日本免疫学会学術集会	京都	2014年12月
Suppression of cytokine production from group 2 innate lymphoid cells by interferon- γ .	Kudo F, Seki Y, Takaki S.	第43回日本免疫学会学術集会	京都	2014年12月
Sialic-acid-binding Ig-like lectins, potential peripheral markers for mucosal damage of inflammatory bowel disease.	Kawamura YI, Maeyashiki C, Hagiwara T, Otsubo T, Akiyama J, Dohi T.	United European Gastroenterology 2014	Vienna	2014年10月
食道扁平上皮癌におけるデスゾーム関連分子のDNAメチル化異常.	萩原輝記, 大坪武史, 中野(田村)美和, 山田和彦, 日野原千速, 三宅大, 清水利夫, 土肥多恵子, 河村由紀.	第87回日本生化学会大会	京都	2014年9月
Intestinal mucosal injury induced by anti-cancer agents is mediated by TWEAK/Fn14 and IL-13.	Sezaki T, Hirata Y, Kawamura YI, Dohi T.	第43回日本免疫学会総会	京都	2014年12月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者)	登録日(申請日)	出願国

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。