慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	皮膚バリア機能障害がもたらす気管支喘息におけるIL-23の役割の解明と創薬応用
Sub Title	Elucidation of the role of IL-23 in bronchial asthma caused by skin barrier dysfunction and drug discovery application
Author	加川, 志津子(Kagawa, Shizuko) 福永, 興壱(Fukunaga, Koichi) 鈴木, 雄介(Suzuki, Yusuke) 久保, 亮治(Kubo, Akiharu) 加畑, 宏樹(Kabata, Hiroki) 正木, 克宜(Masaki, Katsunori) 持丸, 貴生(Mochimaru, Takao) 松坂, 雅子(Matsusaka, Masako)
Publisher	
Publication year	2017
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2016.)
JaLC DOI	
Abstract	我々は, IL-17Aを産生する主な細胞であるTH17細胞の分化, 増殖に必要なIL-23が, パッチを塗布した皮膚局所において生産されることを見出した。その後, 我々は経皮感作喘息の治療標的として, 皮膚局所で産生されるIL-23とそれにより亢進するTh17系サイトカイン亢進の役割に着目し, 抗IL-23を経皮感作喘息モデルマウスに投与した後, 好酸球性気道炎症を評価した。その結果, 感作相に抗IL-23抗体を投与した群はcontrol IgG抗体を投与した群に比較して, OVA特異的IgG1抗体の産生が減少する傾向がみられ, 更に気管支肺胞洗浄液の好酸球数および組織中好酸球浸潤が有意に減少することを見出した。 Th17 cells are the main cells that produce IL-17A.We found that IL-23 is required for the differentiation of Th17 cells via a patch application on the skin.In oder to find a therapeutic target of percutaneous sensitized asthma, I focused on the role of IL-23 produced in the local skin region and the role of Th17 in cytokine enhancement by administrating anti-IL-23 or control IgG to a percutaneously sensitized asthma mouse model, and then evaluating it for eosinophilic airway inflammation In the group to which the anti-IL-23 antibody was administered during the sensitization phase, the production of OVA-specific IgG1 antibody tended to decrease compared to the group to which the control IgG antibody was administered, and furthermore, the bronchoalveolar lavage fluid eosinophil count and eosinophil infiltration in tissues were found to decrease significantly.
Notes	研究種目：基盤研究(C)(一般) 研究期間：2014～2016 課題番号：26461198 研究分野：皮膚科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_26461198seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２９ 年　 ６ 月　 ８ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2014～2016
課題番号：２６４６１１９８

研究課題名（和文）皮膚バリア機能障害がもたらす気管支喘息におけるIL-23の役割の解明と創薬応用

研究課題名（英文）Elucidation of the role of IL-23 in bronchial asthma caused by skin barrier dysfunction and drug discovery application

研究代表者
加川　志津子（Kagawa, Shizuko）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・研究員

研究者番号：８０６４５５０７

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,800,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、IL-17Aを産生する主な細胞であるTH17細胞の分化、増殖に必要なIL-23が、パッチを塗布した皮膚局所において生産されることを見出した。その後、我々は経皮感作喘息の治療標的として、皮膚局所で産生されるIL-23とそれにより亢進するTh17系サイトカイン亢進の役割に着目し、抗IL-23を経皮感作喘息モデルマウスに投与した後、好酸球性気道炎症を評価した。その結果、感作相に抗IL-23抗体を投与した群はcontrol IgG抗体を投与した群に比較して、OVA特異的IgG1抗体の産生が減少する傾向がみられ、更に気管支肺胞洗浄液の好酸球数および組織中好酸球浸潤が有意に減少することを見出した。

研究成果の概要（英文）：Th17 cells are the main cells that produce IL-17A.We found that IL-23 is required for the differentiation of Th17 cells via a patch application on the skin.In oder to find a therapeutic target of percutaneous sensitized asthma, I focused on the role of IL-23 produced in the local skin region and the role of Th17 in cytokine enhancement by administrating anti-IL-23 or control IgG to a percutaneously sensitized asthma mouse model, and then evaluating it for eosinophilic airway inflammation In the group to which the anti-IL-23 antibody was administered during the sensitization phase, the production of OVA-specific IgG1 antibody tended to decrease compared to the group to which the control IgG antibody was administered, and furthermore, the bronchoalveolar lavage fluid eosinophil count and eosinophil infiltration in tissues were found to decrease significantly.

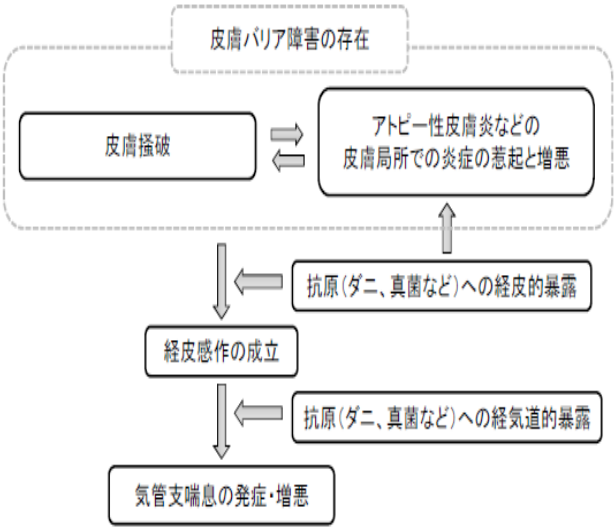
研究分野：皮膚科学

キーワード：経皮感作　皮膚バリア　IL-23

研究開始当初の背景

近年の疫学的解析によると、気管支喘息はその発症素因や臨床症状などからいくつかのタイプに分類できることが報告され（Moore WC. Am J Crit Care Med, 2010）、それぞれの病態素因に応じた個別治療が志向されている。このうちの若年発症の気管支喘息の大部分は特定抗原への過剰な免疫応答を原因とするアトピー型気管支喘息である。そして近年、**アトピー型気管支喘息の発症と増悪の要因として、アトピー性皮膚炎の存在や皮膚掻破といった皮膚バリア障害を原因とする抗原経皮感作が注目されている**（図1）。

抗原経皮感作からの気管支喘息発症模式図（図 1）



そこで我々は、既存の報告（Spergel JM, J Clin Invest, 1998）を参考に卵白アルブミン(OVA)貼付経皮感作喘息モデルマウスを作成した。この**経皮感作喘息モデルマウスでは脾および肺におけるIL-17A産生が古典的なOVA経腹腔感作喘息モデルマウスと比較して亢進することが知られる。**

1.　研究の目的

A) 皮膚局所での IL-23 の産生細胞と産生機序を明らかにする。

B) 抗原経皮感作時の IL-23 の阻害が好酸球性気道炎症の減弱をもたらした機序が、Th17 系サイトカインの抑制を介しているかどうかを明らかにする。他の機序としては抗体産生抑制などの Th2 系の抑制や、Treg 系の促進を介した抑制が関与する可能性も考えられる。

C) 肺局所における IL-17A の産生細胞と産生機序を解明する。

2.　研究の方法

抗原を経皮感作して経気道チャレンジさせる喘息モデルマウスを作成し、その感作相に抗 IL-23 抗体もしくは抗 IL-17A 抗体を投与することによる気管支喘息表現型の変化をみる。

また、**皮膚局所でのバリア障害や抗原補足機構における IL-23/Th17 系サイトカインの関与機序の解明**にあたり、慶應義塾大学皮膚科との連携の下、**表皮シートの作成**や**単離皮膚細胞のフローサイトメトリーによる解析**、**蛍光免疫染色**などの評価を行う。

（1）経皮感作喘息モデルマウスの作成と気道・肺における表現型の評価と全身性炎症の評価

抗 IL-23 抗体もしくは抗 IL-17A 抗体を感作相に投与することでサイトカインの阻害を行った経皮感作喘息モデルマウスを作成し、以下の項目を評価する。

①マウス呼吸機能解析システム（FlexiVent）を用いて**気道過敏性**を測定する。

②**気管支肺胞洗浄液中の細胞数・分画**を計測しさらに ELISA 法でサイトカインを測定する。

③リアルタイム PCR 法で肺における Th17 系、Th2 系、Th1 系サイトカイン mRNA を測定する。

④血清 OVA 特異的免疫グロブリンを ELISA 法により測定する。

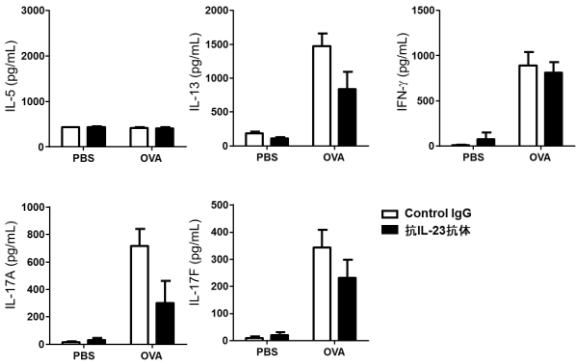
⑤ホルマリン固定した肺を PAS 染色し、**気道粘液産生**を評価する。

⑥HE 染色法で肺組織への好酸球の浸潤を評価する。

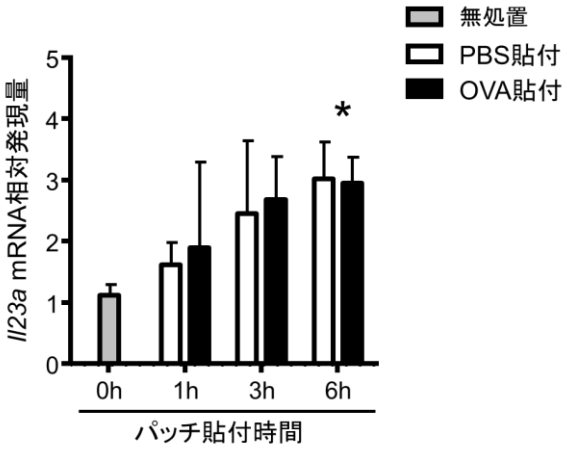
（2）経皮感作喘息モデルマウスにおける脾細胞および肺局所での Th2, Th17 産生確認。

4. 研究成果

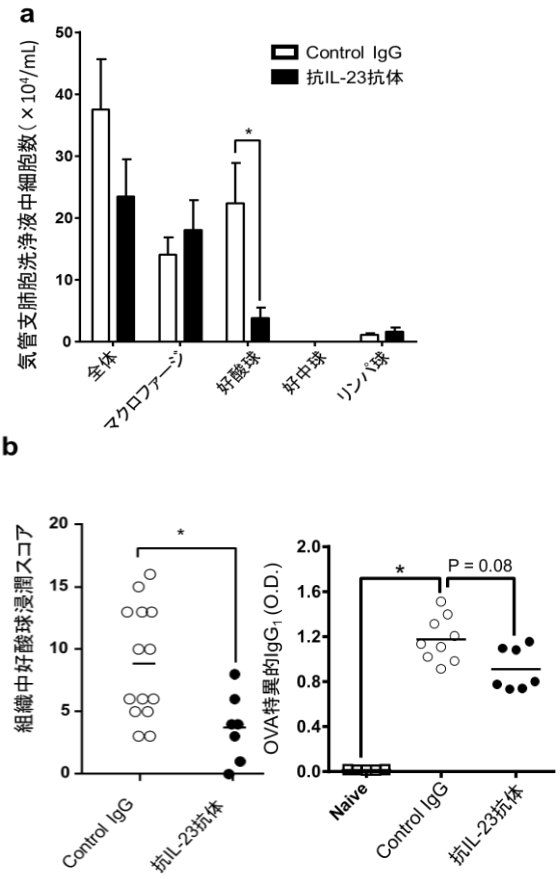
経皮感作喘息モデルマウスの脾細胞を単離して *in vitro* で抗原再刺激を行ったところ、図 5 に示すように、これら脾臓細胞は Th17 系だけでなく Th2, Th1 系のサイトカインの産生を行うことが確認され、また抗 IL-23 抗体の投与は Th17 系だけでなく、IL-13 の産生を抑制する可能性も示唆された。



IL-17A を産生する主な細胞である TH17 細胞の分化、増殖に必要な IL-23 が、パッチを塗布した皮膚局所において生産されることを見出した。



抗 IL-23 を経皮感作喘息モデルマウスに投与した後、好酸球性気道炎症を評価した。その結果、感作相に抗 IL-23 抗体を投与した群は control IgG 抗体を投与した群に比較して、OVA 特異的 IgG1 抗体の産生が減少する傾向がみられ、さらに気管支肺胞洗浄液の好酸球数および組織中好酸球浸潤が有意に減少することを見出した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) Ogawa R, Suzuki Y, Kagawa S, et al. Distinct effects of endogenous interleukin-23 on eosinophilic airway inflammation in response to different antigens.
Allergol Int. 64 (Suppl); S24-9. 2015
査読有

(2) Masaki K, Suzuki Y, Kagawa S, et al. Dual role of interleukin-23 in epicutaneously-sensitized asthma in mice. Allergol Int. vol. 63 Suppl 1 p.13, 2014
査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

(1) Masaki K, Kagawa S, et al. Dual role of

interleukin-23 in epicutaneously-sensitized asthmatic model mice. The Japanese Respiratory Society (English session). Apr 2014.大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル(大阪)Osaka Japan.

(2) Masaki K, Suzuki Y, Kagawa S, et al.Roles of interleukin-23 on airway inflammation and responsiveness in epicutaneously-sensitized asthma model of mice.Japan & North Asia Chapter of International Association of Asthmology. Tokyo, Japan. 2013. 6

(3) 正木克宜, 加川志津子ら. 経皮感作喘息モデルマウスにおける IL-23 の役割. アレルギー・好酸球研究会 2013. 2013 年 6 月. 東京.

(4) 正木克宜, 加川志津子ら. 経皮感作喘息モデルマウスの抗原感作時および暴露時における IL-23 の役割.第 53 回日本呼吸器学会総会 2013 年 4 月. 東京.

(5) Masaki K, Suzuki Y, Kagawa S, et al. Different Roles of Interleukin-23 During the Epicutaneous Sensitization and the Antigen Exposure to the Airways on Airway Inflammation and Responsiveness in Mice.
American Academy of Allergy Asthma and Immunology. San Antoino, USA, Feb 2013

(6) 正木克宜, 加川志津子ら. 経皮感作喘息モデルマウスの抗原感作相および暴露相における IL-23 の役割. 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2012 年 11 月. 大阪

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
加川 志津子(KAGAWA, Shizuko)
慶應義塾大学・医学部・研究員
研究者番号:80645507

(2)研究分担者
( )

研究者番号:

(3)連携研究者
福永 興壱(Fukunaga, Koichi)
慶應義塾大学・医学部・専任講師
研究者番号: 60327517

鈴木 雄介(Suzuki, Yusuke)
慶應義塾大学・医学部・特任講師
研究者番号:80306696

久保 亮治 (Kubo, Akiharu)
慶應義塾大学・医学部・専任講師
研究者番号:70335256

(4)研究協力者

加畑 宏樹(Kabata, Hiroki)
正木 克宜(Masaki, Katsunori)
持丸 貴生(Mochimaru, Takao)
松坂 雅子(Matsusaka, Masako)