

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 安齋 理
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 1104 号
学位授与の日付 令和5年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Interleukin-18 as a severity marker and novel potential therapeutic target for epidermolytic ichthyosis.
(インターロイキン18の表皮性魚鱗癬における重症度マーカーおよび新規治療標的としての有用性の検討)

論文審査委員 主査 教授 池内 健
副査 教授 平島 正則
副査 講師 長崎 啓祐

博士論文の要旨

背景・目的:

表皮融解性魚鱗癬 (epidermolytic ichthyosis) はケラチン1または10遺伝子の変異で生じる先天性魚鱗癬の一型であり、生下時から全身の紅斑、水疱、びらんなどを生じ、時に感染症により命に関わることもある疾患である。特に、先天性魚鱗癬患者において、皮膚の炎症はかゆみや鱗屑などを生じ、著しく患者のQOLを障害する。近年、サイトカイン特異的な抗体製剤などの生物学的製剤がいくつかの先天性魚鱗癬において有用である可能性が注目されている。しかし、表皮融解性魚鱗癬に特異的なサイトカインやケモカインの変化など免疫学的特徴が疾患病態へ与える影響は明らかになっておらず、有効な治療法は確立していない。今回、申請者らは表皮融解性魚鱗癬における重症度マーカーや新規治療ターゲットを解明するための検討を行った。

方法:

表皮融解性魚鱗癬患者 (n=7)、健常人コントロール (n=7) を用いてマルチプレックスサイトカイン/ケモカイン解析を行った。さらに表皮融解性魚鱗癬に加えて、先天性魚鱗癬の亜型である常染色体劣性遺伝性魚鱗癬 (autosomal recessive congenital ichthyosis) (n=2)、ネザートン症候群 (Netherton syndrome) (n=1)、アトピー性皮膚炎 (n=7)、健常人コントロール (n=11) の検体を用いて血清中のインターロイキン (IL) -18 の濃度をELISA法で測定し、魚鱗癬の重症度スコアと比較検討した。各患者の皮膚検体を用いて免疫染色を行い、IL-18の発現の違いを検討した。

ヒト表皮細胞細胞株であるHaCaT細胞に蛍光タンパク質タグ付きの野生型もしくは4種類の変異型ケラチン1発現ベクターをトランスフェクションし、ウェスタンブロットや免疫染色を用いて解析した。

結果:

マルチプレックスサイトカイン/ケモカイン解析においてIL-18を含むいくつかのサイトカイン/ケモカインがEIで有意に上昇していた。さらに、IL-18はELISA法において、表皮融解性魚鱗癬患者 (2714.1 ±

1438.0 pg/mL) で健常人 (218.4 ± 28.4 pg/mL, P < 0.01) に比較して有意に高値であった。抗 IL-18 抗体を用いた免疫染色では他病型と比較して表皮融解性魚鱗癬患者の表皮では健常人や常染色体劣性遺伝性魚鱗癬・ネザートン症候群の患者と比較して IL-18 の発現が亢進していることが明らかになった。表皮融解性魚鱗癬患者における IL-18 の上昇は魚鱗癬重症度スコアとも有意な強い相関を示し、表皮融解性魚鱗癬の重症度マーカーとなると考えられた。

野生型もしくは変異型ケラチン 1 をトランスフェクションした HaCaT 細胞を用いた in vitro 解析では、変異型ケラチン 1 導入細胞の上清中において活性型 IL-18 の発現が亢進していた。また、蛍光免疫染色の検討により、変異型ケラチン 1 発現細胞では NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) が細胞質内で凝集し、apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) が変異型ケラチン凝集塊周囲にクラスターを形成したことから、NLRP3 インフラマゾームの活性化が起きている可能性が示唆された。

考察：

申請者らは表皮融解性魚鱗癬患者において血清 IL-18 が上昇しており、重症度マーカーや新たな治療ターゲットとして有用である可能性を明らかにした。IL-18 は成人発症ステイル病、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、アトピー性皮膚炎、乾癬などの様々な疾患での重症度マーカーとして報告されているが、先天性魚鱗癬を含む遺伝性皮膚疾患ではほとんど検討されていない。近年、細胞骨格であるケラチンの遺伝子変異が細胞の構造的な安定性のみならず、さまざまな免疫学的な作用を持っていることが明らかにされているが、申請者らの検討により変異型ケラチン 1 が NLRP3 インフラマゾームの活性化を介して IL-18 などの炎症性サイトカインを引き起こす新たな病態仮説が示唆された。

また、IL-18 のアンタゴニストとして作用する IL-18 結合タンパクである tadekinig-alfa が近年成人発症ステイル病で良好な治療成績や安全性を示しているという報告もあり、同剤による治療が表皮融解性魚鱗癬患者でも有用である可能性がある。

IL-18 阻害の治療標的としての有用性や変異型ケラチン 1 がインフラマゾームや炎症性サイトカインを活性化させる詳細な分子メカニズムは不明な点も多く、今後さらなる解析が必要である。

審査結果の要旨

表皮融解性魚鱗癬 (epidermolytic ichthyosis: EI) はケラチン 1 または 10 遺伝子変異を原因とする先天性魚鱗癬の一型である。EI に特異的なサイトカインやケモカインの変化など免疫学的特徴が疾患病態へ与える影響は明らかになっておらず、有効な治療法も確立しない。申請者はマルチプレックスサイトカイン解析を行い、血清中のインターロイキン (IL) -18 の濃度が EI 群で上昇することを明らかにした。EI 患者における IL-18 の上昇は、魚鱗癬重症度スコアと有意な相関を示し、EI の重症度マーカーとして有用であると考えられた。抗 IL-18 抗体を用いた免疫染色では、EI 患者の表皮では健常人と比較して IL-18 の発現が亢進していた。HaCaT 細胞を用いた in vitro 解析では、変異型ケラチン 1 導入細胞の上清中において活性型 IL-18 が増加していた。また、蛍光免疫染色の検討により、変異型ケラチン 1 発現細胞では NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) が細胞質内で凝集し、apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) が変異型ケラチン凝集塊周囲にクラスターを形成したことから、NLRP3 インフラマゾームの活性化が起きている可能性が示唆された。

EI 患者において血清 IL-18 が上昇することを明らかにし、重症度マーカーや新たな治療ターゲットとして有望である可能性を示した点に学位論文としての価値を認める。