



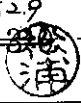





学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 ⁶²⁹ 628 号 	氏名	広瀬 晴奈
審査委員会委員		主査氏名	松浦 恵子 
		副査氏名	花田 俊勝 
		副査氏名	伊波 英克 
<p>論文題目 Selective inhibition of β-catenin/co-activator cyclic-AMP-response-element-binding protein-dependent signaling prevents the emergence of hapten-induced atopic dermatitis-like dermatitis (選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害剤である ICG-001 は、ハプテン誘導性アトピー性皮膚炎様皮膚炎を抑制する)</p> <p>論文掲載雑誌名 Annals of Dermatology</p> <p>論文要旨 【目的】 Wnt/beta-catenin シグナルは様々な制御システムとして機能している。選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナルの阻害剤である ICG-001 は組織線維症、癌、急性リンパ芽球性白血病、喘息といった疾患で抑制効果が報告されている、そこで、beta-catenin/CBP シグナルがアトピー性皮膚炎に寄与しているか、また ICG-001 がアトピー性皮膚炎の治療として有効かどうかを調べる目的で、ハプテン誘導性アトピー性皮膚炎様皮膚炎モデルマウスを作成し、ICG-100 の効果を調べた。さらに in vitro での効果も検証した。 【方法】 ハプテンとしてオキサゾロン (Ox) を用い、無毛マウスの背部に Ox を反復塗布し AD 様皮膚炎を発症させた。またその過程において、ICG-001 を連日腹腔内投与した。ICG-001 の効果は角質水分量、経表皮水分蒸散量 (TEWL)、血清 IgE 値、血清 TSLP 値、血清 TARC 値、血清 periostin 値、表皮・真皮厚、真皮内の myofibroblast 及び mast cell の数について検討した。またシグナル阻害効果は、その下流タンパクである S100A4 の発現レベルによって検証した。さらにヒト表皮角化細胞を、poly I:C+IL-4+TNFα で、ヒト皮膚線維芽細胞を Th2 サイトカイン環境下 (IL-4+IL-13) で刺激し、各パラメータに対する ICG-001 の影響を検討した。 【結果】 ハプテン誘導性に皮膚の表皮・真皮厚、真皮内の myofibroblast 及び mast cell の数の増加がみられ、TEWL、血清 TSLP 値、血清 TARC 値、血清 periostin 値の上昇、角層水分量の低下がみられた。ICG-001 投与により、培養ヒト皮膚線維芽細胞における S100A4 レベルの低下がみられた。またハプテン誘導性アトピー性皮膚炎様皮膚炎の変化も全て抑制される傾向にあった。一方、血清 IgE 値は ICG-001 投与による有意な影響を受けなかった。また線維芽細胞における periostin の発現あるいは TSLP 産生にも ICG-001 は影響しなかった。 【考察】 ハプテン誘導性アトピー性皮膚炎様皮膚炎モデルマウスにおいて、Wnt/beta-catenin/CBP シグナルの阻害剤である ICG-001 は効果を認めたことから、アトピー性皮膚炎には beta-catenin/CBP シグナルが関与し、その阻害剤が治療応用できる可能性が示唆された。In vitro で IgE の増加抑制を認めなかったことから、アトピー性皮膚炎は Th2 非依存的経路であることも示唆された。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第 6-29 ⁶²⁹ 号 	氏名	広瀬 晴奈
審査委員会委員	主査氏名	松浦 恵子 	
	副査氏名	花田 俊勝 	
	副査氏名	伊波 英克 	
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の背景、方法、結果および考察について以下の質問を受けた。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アトピー性皮膚炎の組織像として、本モデルと共通する点と違う点を述べよ。またマウスとヒトの疾患の組織像の違いはどのようなものか。 ・今回使用した CBP 阻害剤 (ICG-001) 以外の阻害剤との比較は行ってみたか？また、ICG-001 に着目した理由はどのような背景があるか？ ・ICG-001 は、現在どの程度臨床治験がすすんでいるのか。 ・ICG-001 の腹腔内投与において、投与量を 4mg/kg に決めた根拠は何か。 ・ICG-001 について、外用は検討したか。PR1-724 は使用したか。副作用として傷が治りにくいなどあるのか。 ・TEWL, SC hydration の測定法、myofibroblast, mast cell の数をどのように計測したか。 ・今回の実験系 (オキサゾロン) による炎症誘発の機序が接触性皮膚炎を模するものだとのことだが ICG-001 による IgE の抑制は見られないにしろ、Mast 細胞の有意な減少は観察されている。Type IV アレルギーでこのような現象は観察されるのか？ ・Fig 2A で表皮肥厚が ICG-001 により減少したようには見えないが、減少したのか。 ・ICG-001 の増殖能への影響は vitro をつかって検討したか。アポトーシスは免疫染色などで調べたか。 ・SI00A4 の免疫染色において、どのように定量性を説明するか。 ・TARC および Periostin の ELISA 測定において、使用したシステムが本当に正しいかポジティブコントロール等を用いて検証したか。 ・疾患モデルの血清 IgE 測定において、サンプルのばらつきが大きいように見えるが、サンプル数を増やすことにより統計的有意差が生じる可能性はないか。 ・本研究では、ICG-001 の投与量および投与時間とも 1 ポイントでのみ測定しているが、濃度と反応時間を振って詳細な検討を行うことで、さらに結果を確証できるのではないか。 ・ICG-001 の効果が Th2 非依存性であると結論づけるためには、さらにどのような実験系を組むことで検証することができるか。 ・近年、アトピー性皮膚炎は皮膚常在菌との関連性が示唆されているが、それを検証するための疾患モデルはどのようなものがあるか。 ・ICG-001 による炎症抑制は炎症による損傷組織の繊維化のみを抑制したからだとしたが、もし、アトピー性皮膚炎によく用いられている NSAID と併用したらどのような効果または副作用が出現すると考えられるか？ ・アトピー性皮膚炎の原因として Wnt 他のパスウェイの変化はどのようなものがあるか。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は 2 本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 広瀬 晴奈

論 文 題 目

Selective inhibition of β -catenin/co-activator cyclic-AMP-response-element-binding protein dependent signaling prevents the emergence of hapten-induced atopic dermatitis-like dermatitis (選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害剤である ICG-001 は、ハプテン誘導性アトピー性皮膚炎様皮膚炎を抑制する)

要 旨

【目的】

アトピー性皮膚炎 (AD) の病態は、皮膚バリア機能異常、アレルギー性炎症及びかゆみの 3 側面が互いに関係し合いながら形成されると考えられている。病理学的には、表皮肥厚や炎症細胞浸潤に加えて、真皮の線維化も観察されている。この線維化の結果亢進した periostin が表皮角化細胞からの TSLP 発現を誘導しランゲルハンス細胞に Th2 型免疫応答を誘導する機能を付与する経路の存在も知られている。一方、増殖抑制・分化促進作用や組織の線維化阻止作用を有する選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害剤が、癌や線維化疾患 (肝硬変など)、更には気管支喘息 (気管支の線維化が観察される) などに治療効果を有することが示され、Wnt/beta-catenin/CBP シグナルがそれらの疾患の病態に関与していると考えられる。本研究では、Wnt/beta-catenin/CBP シグナルがアトピー性皮膚炎の病態に関与しているかを検証することを目的とした。

【方法】

オキサゾン (Ox) 感作マウスの背部に Ox を反復塗布し AD 様皮膚炎を発症させる過程において、選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害剤 (ICG-001) を連日腹腔内投与した。ICG-001 の効果は角質水分量、経表皮水分蒸散量 (TEWL)、血清 IgE 値、血清 TSLP 値、血清 TARC 値、血清 periostin 値、表皮・真皮厚、真皮内の myofibroblast 及び mast cell の数について比較、検討した。ICG-001 による Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害効果は、その下流タンパクである S100A4 の発現レベルによって検証した。更に、ヒト表皮角化細胞を、poly I:C+IL-4+TNF α で、ヒト皮膚線維芽細胞を Th2 サイトカイン環境下 (IL-4+IL-13) で刺激し、各パラメータに対する ICG-001 の影響を検討した。

【結 果】

Ox 投与群では Ox 非投与群と比較して、TEWL、血清 TSLP 値、血清 TARC 値、血清 periostin 値、表皮厚、真皮厚、及び真皮内の myofibroblast と mast cell の数はいずれも上昇ないし上昇する傾向を認め、角層水分量は低下した。Ox 投与+ICG-001 投与群では、線維芽細胞における S100A4 レベルの低下を伴って、これらの変化は全て抑制される傾向にあった。一方、Ox 投与群で上昇を認められた血清 IgE 値は ICG-001 投与による有意な影響を受けなかった。培養ヒト皮膚線維芽細胞における periostin の発現は、ICG-001 により影響を受けなかったが、増殖抑制作用の結果と推察される periostin の分泌低下が認められた。また、ICG-001 は、培養ヒト表皮角化細胞における TSLP 産生に影響しなかった。

【考 察・結 語】

本研究は、Wnt/beta-catenin/CBP シグナルの AD の病態への関与とそれを標的とした治療の可能性を示唆した。一方で、その阻害効果は血清 IgE 値の有意な低下を伴っておらず、Th2 型炎症非依存的な経路で AD 発症抑制効果を示していると推察され、AD の病態における Th2 型炎症非依存的な病態の重要性を示唆した。また、細胞培養実験の結果は、(1) Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害は、線維芽細胞における periostin 産生能に影響しないもののその増殖を介して生体への periostin の分泌量を低下させる可能性が有る、(2) ICG-001 を投与されたマウスにおける血清 TSLP の低下は ICG-001 の表皮角化細胞への直接効果ではないこと、を示唆した。今回、マウスの AD モデルで得られた ICG-001 の効果が、どの細胞のどの機能への影響であるかや、ヒトの AD における Wnt/beta-catenin/CBP シグナルの関与について検証する必要があるものの、選択的 Wnt/beta-catenin/CBP シグナル阻害が、AD に限らず慢性炎症性皮膚疾患に対する普遍的な治療戦略となる可能性を期待させる。