

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	渋谷 倫太郎
論文題目	<b>CCL2-CCR2 signaling in the skin drives surfactant-induced irritant contact dermatitis via IL-1<math>\beta</math>-mediated neutrophil accumulation</b> (皮膚における CCL2-CCR2 シグナルは IL-1 $\beta$ による好中球浸潤を介して界面活性剤誘発性刺激性皮膚炎を惹起する)		
(論文内容の要旨) 刺激性皮膚炎(irritant contact dermatitis; ICD)は、刺激性のある化学物質への曝露によって引き起こされる頻度の高い皮膚疾患である。ICD は職業性皮膚疾患に占める割合が最も高く、患者の生活の質の低下や生産性の低下を来すだけでなく、代表的な炎症性皮膚疾患であるアトピー性皮膚炎の発症と悪化にも関与しうる。そのため、病態の理解に基づき ICD をコントロールすることは重要である。CC ケモカインリガンド 2 (CCL2) は、脳、肝臓、腎臓の組織傷害において重要な炎症性メディエーターであり、単球に主に発現する CC ケモカイン受容体 2 (CCR2) を介して、走化性機能を発揮する。皮膚において CCL2 は、免疫細胞、特に単球の遊走を介して創傷治癒や線維化を促進する。界面活性剤によるマウスやヒトの ICD 病変部において CCL2 産生が亢進することが知られるが、CCL2 の病態への関与は不明である。そこで、本研究は、代表的な界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (Sodium dodecyl sulfate; SDS) により誘発される刺激性皮膚炎の病態への CCL2 の関与を検証した。 まず、野生型マウス耳介皮膚へ SDS を 6 日間反復塗布して ICD を誘導した。この SDS 誘発性 ICD は、バリア破壊、表皮肥厚、好中球浸潤といったヒト ICD と共通する特徴を有し、病変部における CCL2 産生を伴った。SDS 誘発性 ICD 及び好中球浸潤は、CCL2 や CCR2 の欠損、あるいは皮膚局所への CCL2 阻害抗体投与により減弱した。これらの結果により、皮膚における CCL2-CCR2 シグナルが SDS 誘発性 ICD の発症を促進することが示唆された。次に、CCL2 がどのような細胞の CCR2 を介して SDS 誘発性 ICD に関与するのか、骨髄キメラマウスを作製して検証した。放射線照射した野生型マウスに CCR2 欠損マウスあるいは野生型マウスの骨髄を移植し 12 週後に SDS を塗布したところ、両群で同等の ICD が誘導された。一方で、野生型マウス骨髄を移植した CCR2 欠損マウスでは、野生型マウス骨髄を移植した野生型マウスと比較し、SDS 誘発性 ICD 及び好中球浸潤が減弱した。これらより、SDS 誘発性 ICD の発症には、放射線感受性細胞の CCR2 ではなく、放射線抵抗性細胞の CCR2 が重要であることが示唆された。次に、SDS 誘発性 ICD の病態への好中球の関与を、抗 Ly6G 抗体を用いた好中球除去により検証した。好中球除去により SDS による耳介腫脹、表皮肥厚、バリア障害は減弱したことから、皮膚における CCL2-CCR2 シグナルは、少なくとも部分的に好中球の皮膚浸潤を誘導することで ICD の発症を促進することが示唆された。 野生型および CCR2 欠損マウスの SDS 塗布皮膚を用いた RNA シーケンスの結果、CCR2 欠損マウスでは野生型マウスと比較し、 <i>Il1b</i> などの好中球遊走に関わる遺伝子の発現が低かった。CCR2 欠損マウスにおける SDS 誘発性 ICD 及び好中球浸潤は、リコンビナント IL-1 $\beta$ の皮内単回投与によって野生型マウスと同等に回復したことから、CCR2 依存的な IL-1 $\beta$ 発現が SDS 誘発性 ICD に重要であることが示唆された。蛍光免疫染色の結果、SDS 誘発性 ICD の病変部における IL-1 $\beta$ 陽性細胞の大部分は Vimentin 陽性間葉系細胞であった。 以上の結果より、皮膚における CCL2-CCR2 シグナルは、IL-1 $\beta$ による好中球の皮膚浸潤を介して SDS 誘発性 ICD の発症を促進することが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

刺激性皮膚炎 (irritant contact dermatitis; ICD) は、頻度の高い皮膚疾患であり、病態の理解に基づき疾患を制御することは重要である。ケモカイン CCL2 は、受容体である CCR2 を介して様々な臓器の組織損傷に伴う炎症に関わるが、ICD の病態への関与は不明である。本研究では、代表的な界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) による ICD 発症への CCL2 の関与をマウスモデルで検証した。野生型マウスの耳介皮膚に SDS を 6 日間連続塗布することで生じる SDS 誘発性 ICD は、バリア破壊、表皮肥厚、好中球浸潤などヒト慢性 ICD と共通の特徴を有し、病変部での CCL2 産生を伴った。SDS 誘発性 ICD 及び好中球浸潤は、CCL2 または CCR2 の欠損、あるいは皮膚局所への CCL2 中和抗体投与で減弱した。さらに、SDS 誘発性 ICD は好中球除去により軽減したことから、CCL2-CCR2 シグナルは、少なくとも部分的に好中球の皮膚浸潤を介して ICD を惹起することが示唆された。CCR2 欠損マウスの ICD 病変部では好中球遊走因子の一つである IL-1 $\beta$  の遺伝子発現が低下しており、CCR2 欠損マウスの SDS による耳介腫脹と好中球浸潤は、リコンビナント IL-1 $\beta$  の皮内単回投与によって野生型マウスと同等に回復した。以上より、皮膚における CCL2-CCR2 シグナルは、IL-1 $\beta$  による好中球の皮膚浸潤を介して SDS 誘発性 ICD の発症を促進することが示唆された。

以上の研究は刺激性皮膚炎の発症機序解明に貢献し、外的刺激に対する皮膚免疫応答の理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 10 月 12 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降