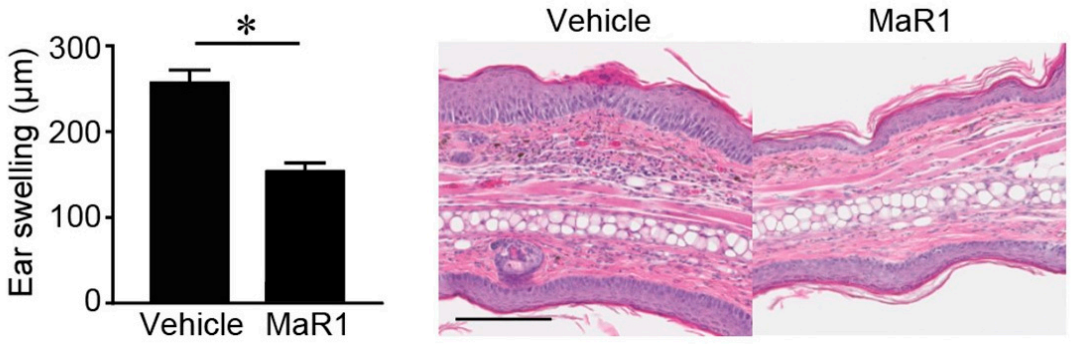
| 174　炎症性皮膚疾患におけるMaresin 1の作用メカニズムの解明 | 澤田　雄宇 |
|---|---|

**【目的】**魚類などに含まれるエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸を代表とするオメガ 3 脂肪酸は抗炎症効果を有していることが知られている。オメガ 3 脂肪酸はヒトの体内で生成できないが、食べ物から摂取され体内で代謝された後、種々の抗炎症性物質が生成されることが知られている。しかし、そのメカニズムはいまだ不明な点が多い。近年、ドコサヘキサエン酸由来の脂質メディエーターも抗炎症効果を発揮することが知られており、その中でも Maresin 1 は、マクロファージの貪食抑制効果や好中球の遊走の抑制効果を介して、腸炎モデルマウスや喘息モデルマウスでの抗炎症効果を発揮することが分かってきている。しかし、皮膚における抗炎症効果については全く検討されていない。本研究では Maresin1 の抗炎症効果を検討するため、代表的な炎症性皮膚疾患である乾癬をターゲットとして、乾癬モデルマウスを用いて検討するとともに、その詳細な作用メカニズムを解明するため、種々の炎症細胞に対する効果を検討した。

**【方法】**Maresin 1 の皮膚炎に対する抗炎症効果を検討するため、イミキモド誘導乾癬モデルならびに IL-23 皮下注乾癬モデルでに対する抗炎症効果を検討した。また、その詳細な作用メカニズムを検討するため、Il-23 受容体の発現について skin suspension cell を用いて検討を行った。

**【結果】**Maresin 1 投与群において有意にイミキモド誘導皮膚炎の減弱効果を認め、IL-17A 産生γδT 細胞ならびに Th17 細胞が Maresin 1 投与群において減少していた。PCR によるサイトカインプロファイル解析では、IL-17A の発現低下を認めるものの、IL-23p19 の発現に差は認めなかった。以上の結果より、Maresin 1 は IL-23p19 より下流のシグナルを阻害している可能性が考えられた。IL-23 皮下注による乾癬モデルにおいても同様の現象が観察された。したがって、Maresin 1 により IL-23 に対する反応性が低下している可能性が示唆された。Maresin 1 は IL-17A 産生γδT 細胞ならびに Th17 細胞の RoRγt ならびに IL-23 受容体の internalization を介して IL-23 受容体の発現を減弱することが確認された。

イミキモド誘導乾癬モデルマウスにおける Maresin 1 の抗炎症効果



# 174. 炎症性皮膚疾患における Maresin 1 の作用メカニズムの解明

澤田　雄宇

産業医科大学 医学部 皮膚科

Key words : Maresin 1, 乾癬, IL-23, IL-17

## 緒　言

魚類などに含まれるエイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸を代表とするオメガ 3 脂肪酸は抗炎症効果を有していることが知られている［1］。オメガ 3 脂肪酸はヒトの体内で生成できないが、食べ物から摂取され体内で代謝された後、種々の抗炎症性物質が生成されることが知られている。しかし、そのメカニズムはいまだ不明な点が多い。近年、エイコサペンタエン酸由来の生理活性物質の一つとしてレゾルビン E1 が同定され、様々な炎症性疾患モデルにおいてその強力な抗炎症作用が証明された ［2, 3］。

一方、ドコサヘキサエン酸由来の脂質メディエーターも抗炎症効果を発揮することが知られている。その中でも Maresin 1 は、マクロファージの貪食抑制効果や好中球の遊走の抑制効果を介して、腸炎モデルマウスや喘息モデルマウスでの抗炎症効果を発揮することが分かってきている［4, 5］。しかし、皮膚における Maresin 1 の抗炎症効果については検討されていない。

本研究では Maresin1 の抗炎症効果を検討するため、代表的な炎症性皮膚疾患である乾癬をターゲットとして、乾癬モデルマウスを用いて検討するとともに、その詳細な作用メカニズムを解明するため、種々の炎症細胞に対する効果を検討した［6］。

## 方　法

### 1. イミキモド誘導乾癬モデルを用いた Maresin 1 の抗炎症効果の検討

イミキモド誘導による乾癬モデルマウスに Maresin 1 を投与し、イミキモドによる炎症を抑えられるか検討した。その抗炎症効果を詳細に検討するため皮膚から回収した免疫細胞を用いて Maresin 1 の作用メカニズムを検討した。

### 2. IL-23 皮下注乾癬モデルを用いた Maresin 1 の抗炎症効果の検討

Maresin 1 の効果をより乾癬の病態に沿ったモデルで検証するため、IL-23 皮下注モデルマウスを用いて Maresin 1 の抗炎症効果を検討した。

### 3. Maresin 1 による IL-23 受容体発現調整機能の解析

耳介皮膚から Skin suspension cell を回収し、*in vitro* における Maresin 1 の効果を検討した。γδT 細胞ならびに Th17 細胞における IL-23 受容体の発現を検討した。

## 結　果

### 1. イミキモド誘導乾癬モデルを用いた Maresin 1 の抗炎症効果の検討

Maresin 1 の皮膚炎に対する抗炎症効果を検討するため、イミキモド誘導乾癬モデルに対する抗炎症効果を検討した。イミキモドを耳介皮膚に連日塗布を行うと乾癬と類似した表皮肥厚ならびに好中球などの炎症細胞浸潤を生じ耳介皮膚の腫脹を生じるが、Maresin 1 投与において耳介皮膚の腫脹は減弱し、組織学的に表皮肥厚ならびに炎症細胞の浸潤が減弱した。

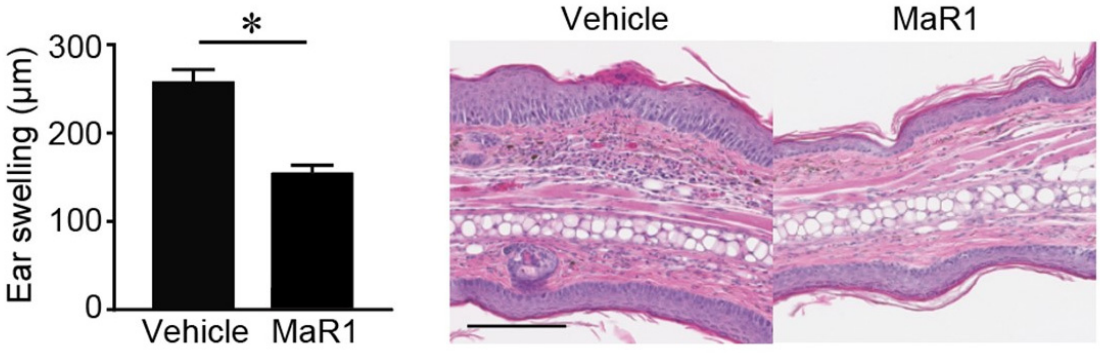



図 1. イミキモド誘導乾癬モデルにおける Maresin 1 の皮膚炎減弱効果

（A）耳介厚腫脹変化。イミキモドを 5 日間連続塗布し、耳介厚腫脹の変化を評価。Maresin 1 または Vehicle はイミキモド塗布 30 分前に静脈投与を行った。（B）組織学的検討。イミキモド最終塗布後 24 時間後に耳介皮膚を採取し、ヘマトキシリン&エオジン染色を行った。Bar：100 μm、Error bar：SEM、*P < 0.05。

**2. イミキモド誘導乾癬モデルにおける Maresin 1 の作用起点についての解析**

Maresin 1 はイミキモド誘導乾癬モデルに対して抗炎症効果を有していることが確認できたため、続いてその作用起点について検討を行うこととした。乾癬の根本的な原因はいまだ不明な点が多いが、近年の研究によりその病態の一部が明らかとなっており、病態に寄与するものとして、Th17 細胞の産生する IL-17、IL-22、また、Th17 細胞を生存させ、増殖させる IL-23、IL-23 を産生する樹状細胞の一種である TIP-DC、その樹上細動を Autocrine 的に活性化する TNF-α の重要性が報告されている。近年ではこれらのサイトカインをターゲットとした生物学的製剤が、乾癬治療の非常に有効な選択肢となっており、TNF-α、IL-23、IL-17 を選択的に阻害させる生物学的製剤は臨床的に非常に強力な有効性を発揮している。したがって、これらサイトカインへの影響について検討を行った。イミキモド塗布後の皮膚におけるサイトカインの発現を評価すると、Maresin 1 投与群において、TNF-α、IL-23p19 の発現に大きな変化はなかったが、Il-17A の発現に有意な差を認めた。したがって、IL-17 の産生に影響を与えていると考えられた。事実、Maresin 1 は Th17 細胞並びにγδT 細胞からの IL-17A の産生を抑制していた。

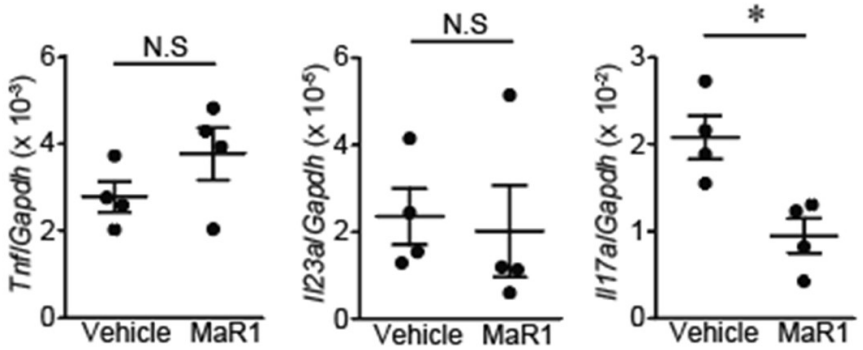



図 2. イミキモド塗布後のサイトカインの変化

イミキモド塗布 24 時間後のサイトカインを評価。Error bar：SEM、*P < 0.05。

**3. IL-23 皮下注乾癬モデルを用いた Maresin 1 の抗炎症効果**

IL-23 皮下注による乾癬モデルは、乾癬の病態に即したサイトカインである IL-23 を投与することによりそれ以降の下流の病態寄与に関したメカニズムを解明するためには有用なモデルであるため、本モデルを用いて Maresin 1 の抗炎症効果を検討した。Maresin 1 投与群において皮膚炎減弱効果を認め、Th17 細胞並びにγδT 細胞からの IL-17A 産生に対して抑制効果を確認した。

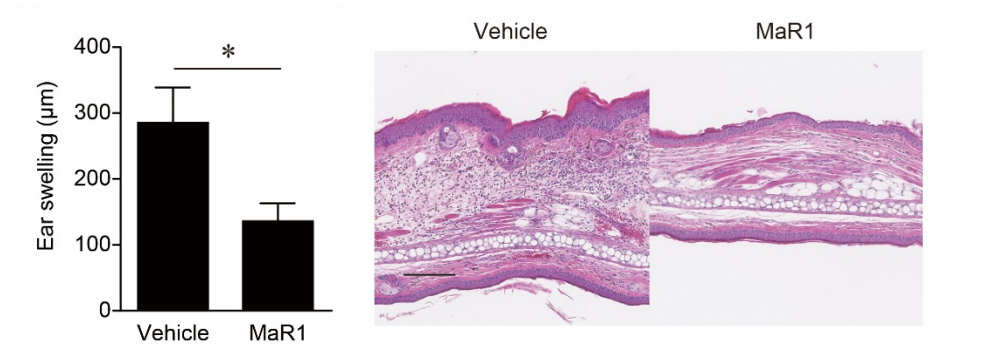



図 3. IL-23 皮下注乾癬モデルにおける Maresin 1 の皮膚炎減弱効果

（A）耳介厚腫脹変化。IL-23 を隔日皮下注し、耳介厚腫脹の変化を評価。Maresin 1 または Vehicle はイミキモド塗布 30 分前に静脈投与を行った。（B）組織学的検討。Il-23 の最終投与後 24 時間後に耳介皮膚を採取し、ヘマトキシリン&エオジン染色を行った。Bar：200 μm、Error bar： SEM、*P＜0.05。

**4. Maresin 1 の作用起点としての IL-23 受容体への影響**

今までの結果から、Maresin 1 は Th17 細胞並びにγδT 細胞の IL-23 に対する反応性の減弱効果が推察された。そのメカニズムを解明するため、γδT 細胞と Th17 細胞の IL-23 受容体の発現と Maresin 1 によるその抑制効果について検討を行った。Maresin 1 の刺激により、IL-23 受容体の発現が減弱していることが分かった。そのメカニズムとして Th17 細胞ならびにγδT 細胞の RoRγt の発現低下を生じる事、そして、IL-23 受容体そのものに対してクラスリン依存性の internalization を生じることにより IL-23 受容体の発現を減弱することが確認された。

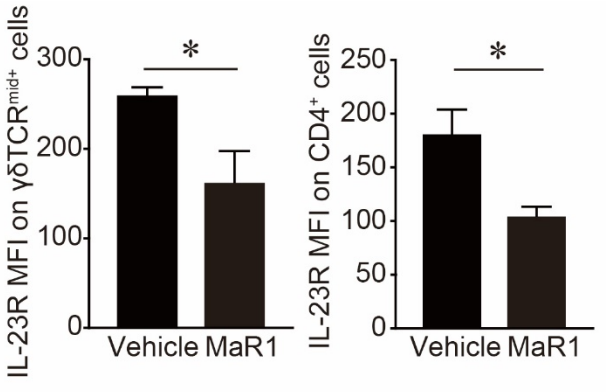



図 4. IL-23 受容体発現の検討

Skin suspension cell を用いて、Maresin 1 または vehicle 刺激を行い、24 時間後のγδT 細胞ならびに Th17 細胞の IL-23 受容体の発現をフローサイトメトリーにて解析した。Error bar：SEM、*P＜0.05。

## 考　察

本研究では、Maresin 1 がイミキモド誘導乾癬モデルの皮膚炎を減弱すること、それは、γδT 細胞ならびに Th17 細胞からの IL-17 産生を減弱することが確認された。Maresin 1 は Th17 細胞を抑制することは知られているため[7]、本研究の結果と合わせて、IL-17 が関与する他の炎症性疾患に対しても同様の効果が期待できると考えられた。

## 文 献


1) Horrobin DF. Low prevalences of coronary heart disease (CHD), psoriasis, asthma and rheumatoid arthritis in Eskimos: are they caused by high dietary intake of eicosapentaenoic acid (EPA), a genetic variation of essential fatty acid (EFA) metabolism or a combination of both? Med Hypotheses 1987; 22:421-8. PMID: 3035353

2) Sawada Y, Honda T, Hanakawa S, Nakamizo S, Murata T, Ueharaguchi-Tanada Y, Ono S, Amano W, Nakajima S, Egawa G, Tanizaki H, Otsuka A, Kitoh A, Dainichi T, Ogawa N, Kobayashi Y, Yokomizo T, Arita M, Nakamura M, Miyachi Y, Kabashima K. Resolvin E1 inhibits dendritic cell migration in the skin and attenuates contact hypersensitivity responses. J Exp Med. 2015 Oct 19;212(11):1921-30. Epub 2015 Oct 5. PMID: 26438363 DOI: 10.1084/jem.20150381.

3) Haworth O, Cernadas M, Yang R, Serhan CN, Levy BD. Resolvin E1 regulates interleukin 23, interferon-gamma and lipoxin A4 to promote the resolution of allergic airway inflammation. Nat Immunol. 2008 Aug;9(8):873-9. Epub 2008 Jun 22. PMID: 18568027 DOI: 10.1038/ni.1627.

4) Marcon R, Bento AF, Dutra RC, Bicca MA, Leite DF, Calixto JB. Maresin 1, a proresolving lipid mediator derived from omega-3 polyunsaturated fatty acids, exerts protective actions in murine models of colitis. J Immunol. 2013 Oct 15;191(8):4288-98. Epub 2013 Sep 13. PMID: 24038091 DOI: 10.4049/jimmunol.1202743.

5) Krishnamoorthy N, Burkett PR, Dalli J, Abdulnour RE, Colas R, Ramon S, Phipps RP, Petasis NA, Kuchroo VK, Serhan CN, Levy BD. Cutting edge: maresin-1 engages regulatory T cells to limit type 2 innate lymphoid cell activation and promote resolution of lung inflammation. J Immunol. 2015 Feb 1;194(3):863-7. Epub 2014 Dec 24. PMID: 25539814 DOI: 10.4049/jimmunol.1402534.

6) Saito-Sasaki N, Sawada Y, Mashima E, Yamaguchi T, Ohmori S, Yoshioka H, Haruyama S, Okada E, Nakamura M. Maresin-1 suppresses imiquimod-induced skin inflammation by regulating IL-23 receptor expression. Sci Rep. 2018 Apr 3;8(1):5522. PMID: 29615641 DOI: 10.1038/s41598-018-23623-9.

7) Chiurchiù V, Leuti A, Dalli J, Jacobsson A, Battistini L, Maccarrone M, Serhan CN. Proresolving lipid mediators resolvin D1, resolvin D2, and maresin 1 are critical in modulating T cell responses. Sci Transl Med. 2016 Aug 24;8(353):353ra111. PMID: 27559094 DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf7483.