

氏名（本籍）	KHUEANGCHIANGKHWANG Sukhonthip	（タイ）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲第 1232 号	
学位授与日付	令和 5 年 3 月 25 日	
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
学位論文題目	<i>Trichinella pseudospiralis</i> -secreted 53 kDa protein ameliorates imiquimod-induced psoriasis by inhibiting the IL-23/IL-17 axis in mice	
審査委員	（主査）教授 山田 陽一	
	（副査）教授 永井 宏樹	教授 森田 浩之

## 論文内容の要旨

### 【目的、緒言】

旋毛虫は宿主筋組織に寄生する寄生性線虫であり、ヒトも加熱等が不十分な感染食肉の喫食により感染する。感染宿主の筋組織では筋肉幼虫として長期寄生するため、旋毛虫は宿主免疫系による排除を回避していると考えられるがその詳細な機序は解明されていない。旋毛虫による宿主免疫回避機構を解明する研究において、旋毛虫感染マウスでは I 型糖尿病や慢性関節炎、実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）などの自己免疫様の病態の改善が報告されている。EAE ではインターロイキン 17(IL-17)を産生する CD4 陽性 T 細胞（Th17）が病態形成に深く関与するが、旋毛虫を感染させることにより Th17 応答が減弱する。旋毛虫の宿主免疫回避機構には虫体から分泌・放出される種々の分子の関与が示唆されており、その中で 53kDa の分泌タンパク質（Tpp53）は主要な分子の一つである。Imiquimod（IMQ）誘導性乾癬はマウス皮膚への IMQ 塗布による乾癬様皮膚炎モデルとして確立しており、その病態には Th17 が関与する。本研究では、旋毛虫感染による Th17 応答減弱への Tpp53 の関与を検討する目的で、IMQ 誘導性乾癬モデルを用いて実験を行った。

### 【対象と方法】

IMQ 誘導性乾癬様皮膚炎を惹起するため、BALB/c マウス（8 週齢，雌）の背部皮膚に IMQ 含有クリームを 7 日間塗布した。Tpp53 投与群では IMQ と組換え体 Tpp53（rTpp53）の混合クリーム（rTpp53+IMQ 群）を、対照群では IMQ(IMQ 群)と BSA の混合クリームを、除毛後にマイクロニードルローラーで処置した皮膚に塗布した。IMQ 誘導性乾癬マウスを用いて以下の点について検証した。

- 1) 乾癬様皮膚炎の評価は Psoriasis Area and Severity Index (PASI)を用いた。PASI では皮膚紅斑、鱗屑、皮膚肥厚を測定し、0 から 4 までの 5 段階で皮膚の炎症状態を評価した。
- 2) 皮膚病変について H&E 染色により組織学的に解析した。
- 3) 好中球浸潤の程度を評価するため、皮膚のミエロペルオキシダーゼ（MPO）活性を測定した。
- 4) 病変皮膚をホモジナイズした検体中のサイトカインを ELISA 法にて測定した。
- 5) 病変組織から RNA を調整し、乾癬の病態形成に関連する各種サイトカイン、ケモカイン遺伝子の発現を定量 RT-PCR 法により検討した。
- 6) 実験に用いたマウスの脾細胞を調整し試験管内にて LPS または抗 CD3 抗体を用いて刺激し、刺激後の培養上清中の IL-17A を ELISA 法にて測定した。また、rTpp53 の免疫担当細胞への作用を検討するため、未処置マウスの脾細胞および腹腔内マクロファージを調整し、試験管内にて rTpp53 を作用させ IL-17A および IL-6 産生への影響を ELISA にて評価した。

## 【結果】

- 1) rTpp53 を IMQ とともに塗布する rTpp53+IMQ 群では、対照の IMQ 群と比較し PASI が低下した。
- 2) 組織学的に病変皮膚を解析したところ、IMQ 誘導性乾癬様皮膚炎で認められる表皮過形成、不全角化、有棘細胞層の肥厚、真皮の表皮への延長が、rTpp53 の塗布により著明に改善した。また、好中球の浸潤も rTpp53+IMQ 群では低下した。
- 3) 組織学的所見と同様に、rTpp53+IMQ 群では IMQ 群と比較し MPO 活性が低下した。
- 4) IMQ 群の病変皮膚では IL-17 および IL-6 の発現が認められたが、rTpp53+IMQ 群では mRNA レベル、タンパク質レベルのいずれにおいても同サイトカインの発現低下が観察された。
- 5) rTpp53+IMQ 群では IMQ 群で高発現する種々のサイトカイン・ケモカインの多くが発現低下していた。
- 6) 実験マウスの脾細胞を LPS や抗 CD3 抗体で刺激することで産生される IL-17A や IL-6 は、IMQ 群と比較し rTpp53+IMQ 群では有意に低下した。
- 7) 未処置マウス由来脾細胞を LPS や抗 CD3 抗体で刺激した際に産生される IL-17A や IL-6 を rTpp53 は減少させた。また、LPS 刺激した腹腔マクロファージから産生される IL-6 も rTpp53 の添加により減少した。

## 【考察】

旋毛虫が分泌する 53kDa タンパク質である Tpp53 の組換え体(rTpp53)は、IMQ の塗布により誘導される IMQ 誘導性乾癬の症状を著明に軽減した。IMQ 誘導性乾癬の病態形成には IL-17 産生 CD4 陽性 T 細胞(Th17)の関与が重要であるが、rTpp53 の塗布は Th17 の分化・活性化に関わる IL-23/IL-17 軸を抑制することで IMQ 誘導性乾癬の症状を軽減したと考えられた。rTpp53 の塗布により IL-23/IL-17 軸に関与する多くのサイトカイン・ケモカインの産生が低下したことから、rTpp53 はこの軸のカスケードの上流に近い部分に作用している可能性が示唆された。rTpp53 は LPS 刺激した腹腔マクロファージからの IL-6 産生を低減させたことから、rTpp53 は炎症の起点となる IL-6 の産生に関連する経路を修飾していると考えられた。

本研究から旋毛虫由来の Tpp53 が Th17 応答を抑制することが明らかとなり、従来の研究での旋毛虫感染による実験的自己免疫性脳脊髄炎症状の改善も旋毛虫が分泌する Tpp53 による Th17 応答の抑制に依拠している可能性が示唆された。

## 【結論】

本研究によって、旋毛虫が分泌する Tpp53 は IL-23/IL-17 軸経路を抑制することで IMQ 誘導性乾癬を軽減させることが明らかとなった。このことから、旋毛虫による宿主免疫回避機構の一端とそれに関与する旋毛虫由来分子の解明につながると考えられる。また、Tpp53 の作用点を解明することで、自己免疫性あるいは炎症性疾患の新たな治療法創出に貢献することを期待している。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 KHUEANGCHIANGKHWANG Sukhonthip は、旋毛虫由来 Tpp53 が IMQ の塗布により誘導される実験的乾癬モデルにおいて病態を軽減させる作用があることを見出した。また、この軽減作用は Tpp53 による IL-23/IL-17 軸経路の抑制に依存することも明らかにした。この結果は、旋毛虫感染症の病態の理解をより深めるだけでなく、自己免疫性疾患や炎症性疾患の新規治療標的の同定にもつながると考えられ、寄生虫学および炎症学の発展に少なからず寄与するものと認める。

---

## [主論文公表誌]

Sukhonthip Khueangchiangkhwang, Zhiliang Wu, Isao Nagano, Yoichi Maekawa: *Trichinella pseudospiralis*-secreted 53 kDa protein ameliorates imiquimod-induced psoriasis by inhibiting the IL-23/IL-17 axis in mice.

Biochemistry and Biophysics Reports 33: 101415(2023). doi: 10.1016/j.bbrep.2022.101415