

氏名（本籍）	藤 井 建 人	（広島県）
学位の種類	博士（医学）	
学位授与番号	甲第 1160 号	
学位授与日付	令和 3 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>Indoleamine 2,3-Dioxygenase 2</i> Deficiency Exacerbates Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation	
審査委員	（主査）教授	秋山 治彦
	（副査）教授	國貞 隆弘
		教授 大沢 匡毅

論文内容の要旨

【緒言】

インドールアミン 2,3-ジオキシゲナーゼ 1 (IDO1) は、トリプトファンをキヌレニンに代謝する経路の律速酵素である。従前の研究によって、IDO1 が乾癬病態に関与している可能性が示されている。一方、近年、IDO1 の相同分子として IDO2 が同定されたが、IDO2 と乾癬との関連性については解析されていない。そこで、本研究では乾癬の病態における IDO2 の関与について検討をおこなった。

【対象と方法】

健常人と乾癬患者から採取した皮膚組織に対し、抗 IDO1 抗体、抗 IDO2 抗体を用いて免疫染色を行い、IDO1 および IDO2 の発現を比較した。同様に、イミキモド (IMQ) 誘発性乾癬様皮膚炎を起こした C57BL/6 野生型 (WT) マウスとワセリン処置した対照群マウスから採取した皮膚組織について、それぞれ免疫染色を行い、IDO1 および IDO2 の発現を調べた。さらにリアルタイム PCR を用いて *Ido1*、*Ido2* の乾癬様皮膚炎との関連性を検討した。次に WT マウスと *Ido1* 遺伝子ノックアウト (KO) マウスに 7 日間連続で耳皮膚に IMQ クリームを塗布し、紅斑、鱗屑、耳の厚さをスコア化して評価し、さらに顕微鏡下で表皮の厚さを測定した。また WT マウスと *Ido2* KO マウスに 7 日間連続で耳皮膚に IMQ クリームを塗布し、紅斑、鱗屑、耳の厚さをスコア化して評価し、さらに顕微鏡下で表皮の厚さを測定した。WT マウスと *Ido2* KO マウスの IMQ クリーム外用前、外用 24 時間後、48 時間後、7 日後の耳皮膚を用いてリアルタイム PCR でサイトカインを測定した。次に WT マウスと *Ido2* KO マウスの 7 日間 IMQ 処置後の耳皮膚に抗 Ki-67 抗体、抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、抗 IL-17 抗体を用いて免疫染色を行った。最後に *Ido2* KO マウスでの皮膚炎の悪化とトリプトファン代謝産物に関連がないか調べるために、WT マウスと *Ido2* KO マウスの 7 日間 IMQ 処置後の耳皮膚を用いて HPLC でトリプトファン代謝産物を測定し比較検討した。

【結果】

健常人と乾癬患者の皮膚組織に抗 IDO1 抗体、抗 IDO2 抗体を用いて免疫染色を行った結果、抗 IDO1 抗体は染色像を示さず、抗 IDO2 抗体は乾癬患者の表皮で強い染色像を示し、また健常人では一部表皮に軽度染色像を示すものもあった。またワセリン処置と IMQ 処置した WT マウスの耳皮膚でも抗 IDO1 抗体は染色像を示さず、抗 IDO2 抗体は IMQ 処置した WT マウスの表皮で強い染色像を示し、

コントロール群でも一部表皮に軽度染色を示すものもあり，さらにリアルタイム PCR では ID01 は未検出であり，ID02 はコントロール群より IMQ 処置群で mRNA レベルでの高い発現傾向を示した。IMQ 処置した WT マウスと *Ido1* KO マウスの耳皮膚の紅斑，鱗屑，耳の厚さ，顕微鏡下での表皮の厚さはいずれも有意差を示さなかった。IMQ 処置した WT マウスと *Ido2* KO マウスの耳皮膚の紅斑，鱗屑，耳の厚さ，顕微鏡下での表皮の厚さは *Ido2* KO マウスで有意な差を示した。WT マウスと *Ido2* KO マウスの IMQ クリーム外用前，外用 24 時間後，48 時間後，7 日後の耳皮膚を用いたリアルタイム PCR では，IMQ 処置 7 日後の WT マウスと比較して *Ido2* KO マウスにおいて，乾癬に重要なサイトカインである TNF- α ，IL-23p19，IL-17A の mRNA 発現レベルの有意な増加がみられた。また免疫染色にて，表皮の Ki-67 陽性細胞数，真皮内の CD4，CD8，IL-17 陽性細胞数が IMQ 処置 7 日後の *Ido2* KO マウスにおいて増加していた。HPLC で計測したトリプトファン代謝産物の結果では，ほとんどの代謝産物が IMQ 処置後において *Ido2* KO マウスの方が WT マウスより高値を示した。

【考察】

本研究において，ID02 が乾癬に対して抑制因子に働くことが示唆された。また，HPLC によるトリプトファン代謝産物の結果に関しては，特にキヌレニンに着目すると，通常キヌレニン代謝の律速酵素である ID02 を欠損させた *Ido2* KO マウスにおいて WT マウスよりもキヌレニンの濃度が下がることが予想されるが，それに反して IMQ 処置後において *Ido2* KO マウスの方が WT マウスより高値を示したことから，*Ido2* KO マウスでの皮膚炎の悪化とトリプトファン代謝産物との関連性は低いと結論付けた。元々 ID02 が ID01 より代謝活性が低いことが知られていること，キヌレニンはアリアル炭化水素受容体に結合することで制御性 T 細胞を誘導し，その結果 IL17 の産生を抑制する作用があることが知られていることから，*Ido2* KO マウスがキヌレニン非依存的に強い炎症を起こした結果，その炎症を抑制するために反応性にキヌレニンが上昇していると推察された。つまり，ID02 にはキヌレニン代謝制御以外の機構で皮膚炎症を抑制する作用があると考えられた。今後，ID02 を欠損することで IL-17+リンパ球が誘導されるメカニズムを解明する必要がある。

【結論】

ID02 が結果的に IL-17 の発現を低下し IMQ 誘発性乾癬様皮膚炎症を抑制している可能性が示唆された。ID02 のさらなる検討は乾癬の新規治療に結び付く可能性がある。

論文審査の結果の要旨

申請者 藤井 建人は，トリプトファンをキヌレニンに代謝するキヌレニン経路の酵素である ID02 が乾癬の病態進行に重要な役割を果たしていることを示した。IMQ 塗布による乾癬様皮膚炎発症マウスモデルにおいて *Ido2* KO マウスでは皮膚炎症状の悪化，IL-17 など炎症性サイトカインの発現上昇と IL-17 陽性リンパ球の表皮への誘導を認めた。一方，*Ido2* KO マウスの皮膚炎ではキヌレニン値が上昇しており，よって ID02 による皮膚炎抑制作用はキヌレニン経路を介していない可能性が示唆された。本研究では，乾癬の発症および病態進行メカニズムの新たな理解と新規治療の開発につながることを期待され，今後の研究，治療の発展に少なからず寄与すると認められる。

[主論文公表誌]

Kento Fujii, Yasuko Yamamoto, Yoko Mizutani, Kuniaki Saito and Mariko Seishima : *Indoleamine 2, 3-Dioxygenase 2* Deficiency Exacerbates Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation Int. J. Mol. Sci, doi:10.3390/ijms21155515 (2020)