

氏名（本（国）籍）	朝比奈 良 太（愛知県）
主指導教員氏名	岐阜大学 教授 前 田 貞 俊
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博甲第507号
学位授与年月日	平成30年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Studies on the Pathophysiological Roles of Interleukin-33 in Canine Atopic Dermatitis (犬アトピー性皮膚炎の病態生理における Interleukin-33 の役割に関する研究)
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 准教授 柴 田 早 苗 副査 帯広畜産大学 教 授 猪 熊 壽 副査 岩 手 大 学 教 授 山 崎 真 大 副査 東京農工大学 准教授 西 藤 公 司 副査 岐 阜 大 学 教 授 前 田 貞 俊

学位論文の内容の要旨

犬アトピー性皮膚炎（cAD）は、経皮的な抗原暴露により誘導される Th2 型炎症を特徴とする。過去の報告から、ケラチノサイトは Th2 型炎症を誘導する様々な液性因子を産生することで、cAD の病態において重要な役割を果たすことが明らかになっている。Interleukin-33（IL-33）はケラチノサイト由来サイトカインの一つであるが、cAD の免疫病態における IL-33 の関与については明らかになっていない。本研究では、cAD の病態生理における IL-33 の関与およびその役割を解明することを目的として、以下の実験を行った。

第1章では、健常犬の末梢血単核球から分離した各 T 細胞サブセット（ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、Th1 細胞および Th2 細胞）における IL-33 受容体（*st2*）の転写解析を実施した。その結果、Th2 細胞における *st2* の転写量は、その他の細胞群と比較して高いことが明らかになった。次に、Th2 細胞をリコンビナント犬 IL-33 および/あるいは IL-2 の存在下で培養後、Th2 サイトカイン（*il-4*、*il-5*、*il-13* および *il-31*）の転写量を定量した。その結果、IL-33 は IL-2 の存在下で Th2 細胞における *il-5* および *il-13* の転写を誘導することが明らかになった。これらの結果から、IL-33 は IL-2 により活性化された Th2 細胞における Th2 サイトカイン産生を促進することが示された。

第2章では、cAD 病変部における IL-33 の転写および発現解析を実施した。その結果、

cAD 病変部における *il-33* の転写量は健常犬の正常皮膚に比べて高いことが明らかになった。また、cAD 病変部における IL-33 の主要産生細胞はケラチノサイトであることが明らかになった。これらの結果から、ケラチノサイト由来の IL-33 が cAD の免疫病態に関与している可能性が示唆された。

第3章では、犬ケラチノサイト細胞株 (CPEK) をリコンビナント犬 IFN- γ または IL-17A の存在下において培養後、*il-33* の転写量を定量した。その結果、IFN- γ または IL-17A によって刺激された CPEK においては、*il-33* の転写が誘導されることが明らかになった。この結果から、これらの炎症性サイトカインが cAD 病変部における IL-33 の産生誘導因子である可能性が示唆された。

以上の研究結果から、ケラチノサイト由来の IL-33 は、Th2 細胞のサイトカイン産生を誘導することで、cAD 病変部皮膚における Th2 型炎症を増強している可能性が示唆された。今回の結果は、IL-33 が cAD における重症度マーカーあるいは治療標的分子となり得る可能性を示している。

審 査 結 果 の 要 旨

犬アトピー性皮膚炎 (cAD) の病態において、ケラチノサイトは様々な液性因子を産生する。Interleukin-33 (IL-33) はケラチノサイト由来サイトカインの一つであるが、cAD の免疫病態における関与については明らかになっていない。本研究は、cAD の病態生理における IL-33 の関与およびその役割を解明することを目的として、以下の実験を行った。

第1章では、健常犬の末梢血単核球を用いて、Th2 細胞における IL-33 受容体 (ST2) の転写量がその他の T 細胞サブセットと比較して高値を示すことを明らかにした。また、IL-33 により刺激された Th2 細胞は、IL-2 の存在下において *il-5* および *il-13* の転写を誘導することを明らかにした。これらの結果より、IL-33 は抗原刺激を受けた Th2 細胞における Th2 サイトカイン産生を増強することが示唆された。

第2章では、cAD 病変部における *il-33* の転写量は健常犬の正常皮膚に比べて高いことが明らかにした。また、cAD 病変部における IL-33 の主要産生細胞はケラチノサイトであることを明らかにした。これらの研究結果から、ケラチノサイト由来の IL-33 が cAD の免疫病態に関与している可能性が示唆された。

第3章では、IFN- γ または IL-17A により刺激された犬ケラチノサイト細胞株 (CPEK) においては、*il-33* の転写が誘導されることが明らかにした。この結果より、これらの炎症性サイトカインが cAD 病変部皮膚における IL-33 の産生を誘導している可能性が示された。

以上の結果から、ケラチノサイトから産生される IL-33 は、Th2 細胞を介して cAD 病変部皮膚におけるアレルギー炎症を促進している可能性が示唆された。今回の結果は、IL-33 が cAD におけるバイオマーカーあるいは新規治療戦略の標的分子となり得る可能性を示す知見であると思われる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Transcriptional analysis of the IL-33 receptor suppression of tumourigenicity 2 and its effects on canine Type 2 T helper cells: a preliminary study
- 著 者 名 : Asahina, R., Nishida, H., Kamishina, H. and Maeda, S.
- 学術雑誌名 : Veterinary Dermatology
- 巻・号・頁・発行年 : In press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Gene transcription of pro-inflammatory cytokines and chemokines induced by IL-17A in canine keratinocytes
- 著 者 名 : Asahina, R., Kamishina, H., Kamishina, H. and Maeda, S.
- 学術雑誌名 : Veterinary Dermatology
- 巻・号・頁・発行年 : 26 (6): 426-431, 2015
- 2) 題 目 : Transcription of thymic stromal lymphopoietin via Toll-like receptor 2 in canine keratinocytes: a possible association of *Staphylococcus* spp. in the deterioration of allergic inflammation in canine atopic dermatitis
- 著 者 名 : Sakamoto, M., Asahina, R., Kamishina, H. and Maeda, S.
- 学術雑誌名 : Veterinary Dermatology
- 巻・号・頁・発行年 : 27 (3): 184-187, 2016
- 3) 題 目 : Pyoderma gangrenosum after trauma in a dog
- 著 者 名 : Nagata, N., Yuki, M., Asahina, R., Sakai, H. and Maeda, S.
- 学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
- 巻・号・頁・発行年 : 78 (8): 1333-1337, 2016
- 4) 題 目 : A review of the roles of keratinocyte-derived cytokines and chemokines in the pathogenesis of atopic dermatitis in humans and dogs
- 著 者 名 : Asahina, R. and Maeda, S.
- 学術雑誌名 : Veterinary Dermatology
- 巻・号・頁・発行年 : 28 (1): 16-24, 2017
- 5) 題 目 : Contrast-enhanced ultrasonographic findings of hepatic arteriportal fistulas in a dog

著 者 名 : Sakamoto, M., Shibata, S., Asahina, R., Yamazoe, K., Kamishina, H., Ishigaki, K., Asano, K. and Maeda S.

学術雑誌名 : Journal of Small Animal Practice

巻・号・頁・発行年 : 58 (7): 419, 2017

- 6) 題 目 : Characterization of a novel canine T-cell line established from a dog with cutaneous T-cell lymphoma

著 者 名 : Hara, K., Iio, A., Asahina, R., Takahashi, M., Mori, T., Nishida, H., Kamishina, H., Sakai, H., Kitoh, K., Mizuno, T., Tsujimoto, H. and Maeda, S.

学術雑誌名 : Journal of Dermatological Science

巻・号・頁・発行年 : 88 (2): 254-256, 2017