

# プロシアニジン B2 による皮膚炎の治療効果の検証と 抗炎症作用のメカニズムの解明

信州大学農学部

田中 沙智

Psoriasis is a chronic, immune-mediated inflammatory skin disease characterized by cutaneous parakeratosis and hyperproliferation of epidermal cells. Psoriasis is a disease caused by infiltration of immune cells into the epidermis and dermis and increased production of inflammatory cytokines. Imiquimod is a low-molecular-weight compound with immunostimulatory activity, and is known to be able to induce psoriasis by applying a cream containing imiquimod to the skin of mice. In this study, we established an imiquimod-induced psoriasis model mouse and verified the preventive effect of EGCG and Procyanidin B2 gallate (PCB2DG) on psoriasis.

When the mouse back skin was treated with imiquimod cream, psoriasis symptom including erythema, thickening and scales were observed on the mouse back skin. These psoriasis symptoms were reduced by administration of EGCG. In addition, histological analysis of the skin showed that hypertrophy of the spinous layer of the epidermis due to the development of psoriasis was reduced by the administration of EGCG. Mouse spleen cells were increased by imiquimod treatment, but decreased by administration of EGCG. Furthermore, the administration of PCB2DG also reduced the symptoms of psoriasis.

These results suggested that we could establish an imiquimod-induced psoriasis model mouse and showed that administration of EGCG or PCB2DG reduced the symptoms of psoriasis. In the future, we would like to evaluate the psoriasis prevention effect of other food-derived polyphenols using imiquimod-induced psoriasis model mice.

## 1. 緒言

乾癬は、角化細胞の分化不全と過剰増殖を特徴とする慢性皮膚疾患であり、患者の割合は世界人口の約2～3%であると推定される。乾癬の典型的な症状として、皮膚表面がわずかに隆起する肥厚、そこに境界の明瞭な赤い発疹である紅斑ができ、その表面に乾燥した銀白色の角質が付着する鱗屑がある<sup>1,2)</sup>。乾癬の症状が最も顕著に現れる皮膚は、表皮、真皮、皮下組織から構成されており、表皮はさらに基底層、有棘層、顆粒層、角質層に分けることができる。角化細胞は基底層で分裂後、上層に向かって移動しながら有棘細胞、顆粒細胞、角質細胞へと分化し、皮膚から剥離する角化システムによって表皮の機能を維持している<sup>3)</sup>。乾癬患者の皮膚において、通常の約10倍の速さで角化細胞が分化することにより、角質が剥がれ落ち、角化細胞の核が分解されず角質層に残存する不全角化が起こると同時に、細胞の過剰増殖による有棘層の肥大化が慢性症状として現れる。また、乾癬の特徴として表皮の肥大化に伴い表皮突起が規則的に伸長することが知られている。乾癬の発症原因は特定されていないが、原因のひとつとして遺伝的要因と環境要因が関与しており、免疫応答の中心的役割を

担うT細胞の機能異常や自己免疫反応により病態が形成されると考えられている<sup>4)</sup>。T細胞のうち、他の免疫細胞に対して活性化の誘導や抗体産生を促すヘルパーT(Th)細胞として機能するCD4陽性T細胞は、エフェクター機能の違いによりさらにTh1、Th2、Th17、制御性T細胞の4つのサブセットに分類される。その中でも乾癬では特にTh17が発症や慢性症状に関与することがわかってきている<sup>5)</sup>。

乾癬の治療には紫外線療法やCD4陽性T細胞やマクロファージの活性化を抑制するシクロスポリン製剤のような免疫抑制剤や、乾癬に関与するサイトカインに作用する抗TNF- $\alpha$ 、IL-12、IL-23、IL-17抗体などの生物学的製剤などが使用されており、症状の軽減や早期治療による効果は認められているが乾癬の根治には至っておらず、強い免疫抑制作用による副作用や治療の長期化が問題となっている<sup>6-8)</sup>。

乾癬はイミキモドの塗布により誘発されることが知られている<sup>9)</sup>。イミキモドは、イミダゾキノリン系の低分子化合物で、樹状細胞やマクロファージが発現するトル様受容体(TLR)7のアゴニストである。イミキモドをマウスの皮膚に塗布することでTLR7に認識され、樹状細胞やマクロファージを活性化させる。それにより、ナイーブヘルパーT細胞のTh1への分化を誘導するIL-12やTh17への分化を誘導するIL-6、IL-23などのサイトカインの産生、炎症性サイトカインであるTNF- $\alpha$ の産生誘導、インターフェロン制御因子によるI型インターフェロンの産生が起こる<sup>10-13)</sup>。これらのサイトカインによりT細胞のTh1、Th17への分化が誘導され、Th1からIFN- $\gamma$ や、Th17からIL-17、IL-22が産生される。IFN- $\gamma$ が角化細胞を活性



Anti-inflammatory effects of Procyanidin B2 on dermatitis in mouse model

Sachi Tanaka

Graduate School of Agriculture, Shinshu University

化し、IL-17やIL-22が角化細胞の増殖を誘導することで皮膚炎症や分化不全が誘導されることが知られている<sup>14)</sup>。また、活性化した免疫細胞から産生されたサイトカインによりケモカインが産生され、皮膚への免疫細胞の浸潤が起こる。イミキモドによって誘発された皮膚炎症では、紅斑、角化細胞の過剰増殖による表皮肥厚や分化不全による鱗屑が観察される。これらの症状がヒトにおける乾癬の症状と非常によく似ていることから、イミキモドを用いたマウス乾癬モデルが広く利用されている<sup>15-17)</sup>。

乾癬の治療において、副作用の少ない新たな治療法の開発が課題となっており、免疫抑制作用を有する食品由来成分であるポリフェノールが着目されている。乾癬抑制効果をもつ食品由来成分として、マンゴスチン由来ポリフェノールであるイソガルシノールやプロッコリーやケールなどに含まれるフラボノイドであるケンペロールが報告されている<sup>18, 19)</sup>。また、緑茶中に最も多く含まれるカテキン類であるエピガロカテキンガレート(EGCG)は抗酸化活性、抗腫瘍効果、抗炎症効果などの生理活性を示すことが知られている<sup>20-22)</sup>。そこで本研究では、イミキモド誘発乾癬モデルマウスにEGCGを投与した際の乾癬予防効果について検証を行った。

ポリフェノールの一種でありブドウやカカオ、お茶に含まれるプロシアニジンB2(PCB2)およびPCB2ガレート(PCB2DG)による炎症抑制効果について研究を進めてきた。PCB2の中で、特にガレート基をもつPCB2DGは炎症性T細胞で過剰に産生されるIL-17などのサイトカイン産生を抑えて、抗炎症効果をもつことを報告している<sup>23)</sup>。しかしながら、PCB2DGが生体内で炎症を抑制することを確認できていない。そこで、イミキモドで誘導する乾癬のマウスモデルを用いてPCB2DGによる乾癬予防効果を明らかにすることを目的とした。

## 2. 方法

### 2.1. 実験動物

C57BL/6マウス(雌)はCLEA Japan (Tokyo, Japan)より購入した。マウスは、室温23±2℃、明期12時間、暗期12時間の環境で飼育を行った。飼育は、信州大学動物実験委員会の定める指針に従った(承認番号019023)。

### 2.2. イミキモドの塗布による乾癬の誘発およびEGCGおよびPCB2DGの投与

イミキモド誘発乾癬モデルマウスは、マウス背側の皮膚に62.5mgのイミキモド5%を含有するクリーム(BESELNA CREAM 5%, 持田製薬株式会社, Tokyo, Japan)を5日間連続して塗布することで構築した。乾癬モデルマウスにおけるEGCGの効果を評価するために、マウスを無作為に3群に分け、コントロール群(CON, n=3)、PBS投与イミキモド塗布群(IMQ, n=5)、EGCG投与イミキモド塗布群(EGCG, n=4)とした(図1)。PCB2DGの乾癬抑制効果を検証するために、同様にマウスを3群に分けて実験を行った。マウスをイソフルランにより麻酔後、背部の体毛を電気シェーバーで剃毛した。剃毛の翌日からIMQ群は200μLのPBS、EGCG群はEGCG(2.5mg/200μL)、PCB2DG群はPCB2DG(2mg/200μL)毎日経口投与し、剃毛3日後から毎日CON群はワセリン、IMQ群、EGCG群およびPCB2DG群は5%イミキモドクリームを62.5mg塗布した。EGCGは、ナガラサイエンス(Gifu, Japan)より購入し、PCB2DGは信州大学農学部の真壁秀文教授より供与頂いたものを使用した。

### 2.3. 乾癬様皮膚炎症の重症度スコア

重症度指数(PASI: Psoriasis Area Severity Index)を用いて背部皮膚の炎症状態を評価した。スコアは炎症面積を考慮せず評価を行った。紅斑、鱗屑および皮膚の厚さは0から4の範囲(0:なし、1:軽度、2:中程度、3:重症、4:極めて重症)で採点した。総合スコアは上記3つの項目の合計(0~12)で表した。

### 2.4. 皮膚の組織学的解析

7日間投与した後、マウスを頸椎脱臼により屠殺し、背部の皮膚を採取した。サンプルを4%パラホルムアルデヒドで18時間固定し、1mLのPBS中で保存後、HE染色標本を作成し、光学顕微鏡による組織学的観察に供した。

### 2.5. 脾臓細胞の調製

屠殺したマウスから脾臓を摘出してほぐし、脾臓細胞を単離した。その懸濁液を40μmナイロン製セルストレ

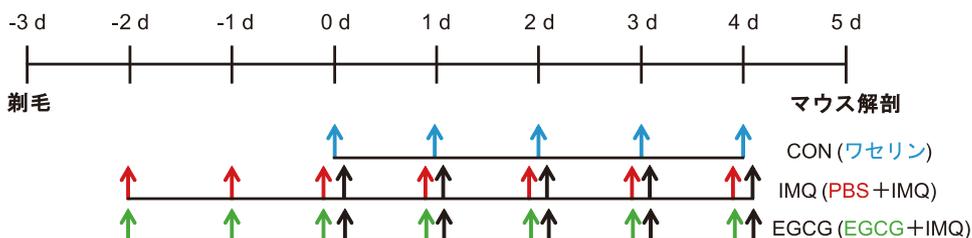


図1 実験スケジュール

ナー (BD Falcon, Franklin Lakes, NJ) に通した。次に、赤血球を除去するために、0.83% NH<sub>4</sub>Cl を含む 0.17 M Tris-HCl 緩衝液 (pH7.65) で細胞を処理した。遠心分離後、細胞は 10%FBS とペニシリン G (100U/mL)、ストレプトマイシン (100 µg/mL) (Sigma, St. Louis, MO)、2-Mercaptoethanol (Sigma) を含む RPMI-1640 培地 (Sigma) を加えて再懸濁した。単離した脾臓細胞のうち、 $8 \times 10^6$  cells をフローサイトメトリー解析に用い、残りの細胞を CD4 陽性 T 細胞の単離に使用した。

## 2. 6. 統計解析

有意差検定は、Student の *t* 検定を用いて行い、有意水準は  $P < 0.05$  とした。

## 3. 結果

### 3. 1. EGCG 投与乾癬モデルマウスにおける皮膚症状

イミキモド誘導乾癬モデルマウスにおける EGCG の効果を調べるため、マウス背部を剃毛し、翌日から 7 日間毎日 PBS または EGCG を経口投与し、剃毛 3 日後から 5 日間毎日ワセリンまたはイミキモドクリームを背部皮膚に塗布した。マウス皮膚の外観から、IMQ 群で肥厚、鱗屑の症状がみられ、EGCG 群で症状の抑制が確認された (図 2A)。また、皮膚の血管分布を観察したところ、IMQ 群で太い血管が発達しているのに対し、EGCG 群では血管がやや細

く、血管拡張が抑制されていることが示された (図 2B)。

乾癬を評価する際に利用される PASI を用いてマウス背部皮膚の炎症状態を評価した。CON 群と比較して IMQ 群、EGCG 群で紅斑・肥厚・鱗屑および総合のスコアの増加がみられ、IMQ 群に比べ EGCG 群でややスコアが低く、特に鱗屑のスコアの増加が大きく抑制されることが確認された (図 3A)。体重増加率は CON 群で変化がなく、IMQ 群、EGCG 群で Day 0 から Day 2 にかけて減少がみられ、その後 IMQ 群で回復がみられたが EGCG 群では回復しなかった (図 3B)。

実験終了時に、マウスの背部皮膚を採取して HE 染色を施し、組織学的解析を行ったところ、IMQ 群で表皮の肥大化と表皮突起の下方への伸長がみられ、EGCG 群で表皮の肥大化および表皮突起の伸長が軽減した (図 4)。以上の結果から、EGCG の経口投与はイミキモド塗布による乾癬様皮膚症状を軽減することが確認された。

### 3. 2. EGCG 投与乾癬モデルマウスにおける脾臓の重量および細胞数

マウスから脾臓を採取し、重量および細胞数の測定を行ったところ、CON 群と比較して IMQ 群では脾臓が肥大化し、EGCG 群で脾臓の肥大化がやや抑制された (図 5A)。また、IMQ 群で脾臓重量および細胞数が有意に増加し、EGCG 群でそれらが有意に抑制された。 (図 5B)。

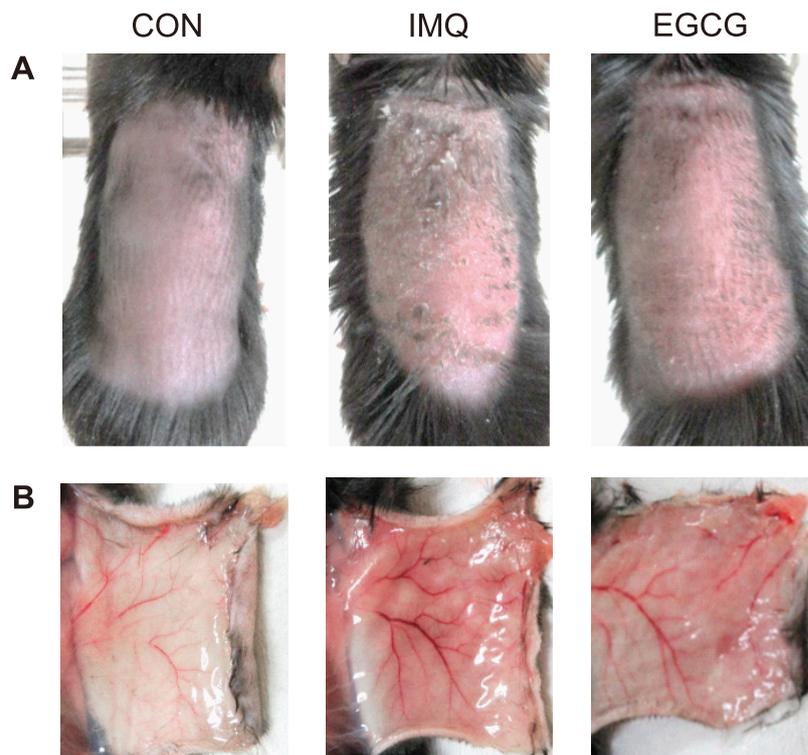


図2 イミキモド誘発乾癬モデルマウス皮膚の外観

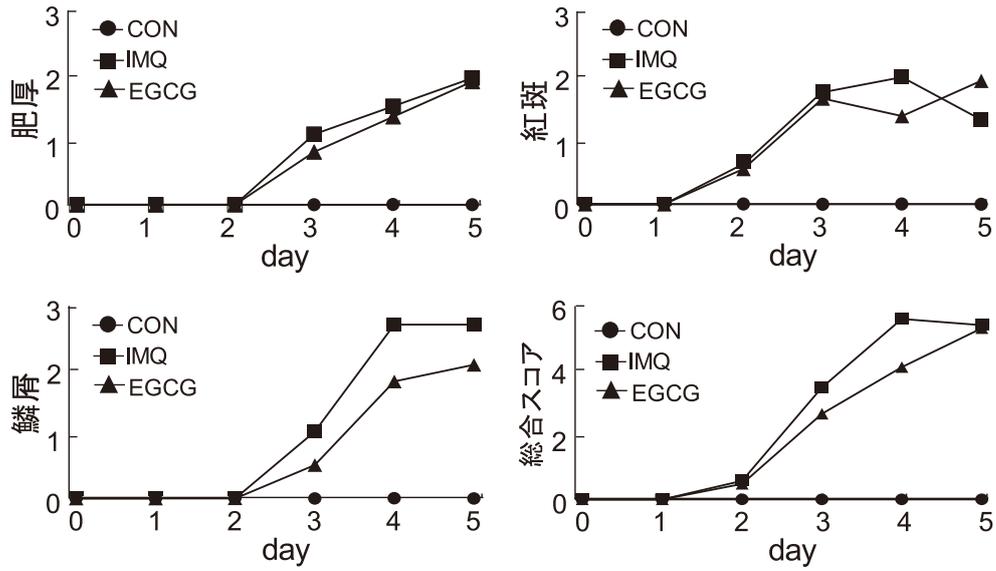


図3 イミキモド誘発乾癬モデルマウス皮膚の重症度スコア

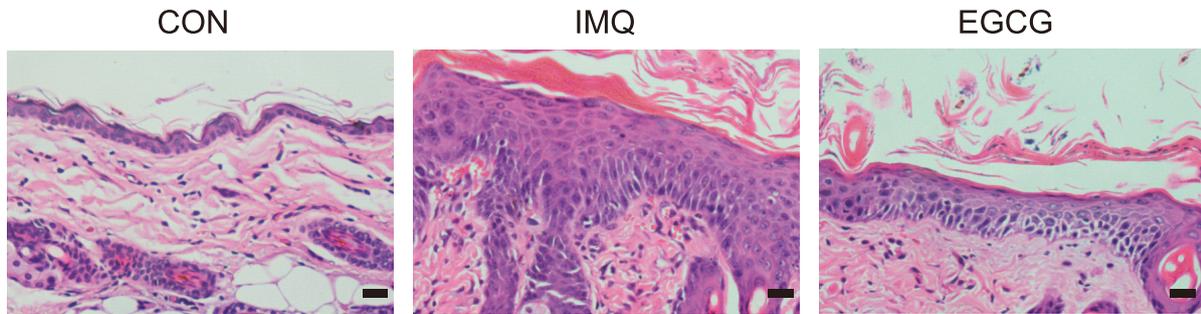


図4 イミキモド誘発乾癬モデルマウス皮膚のHE染色

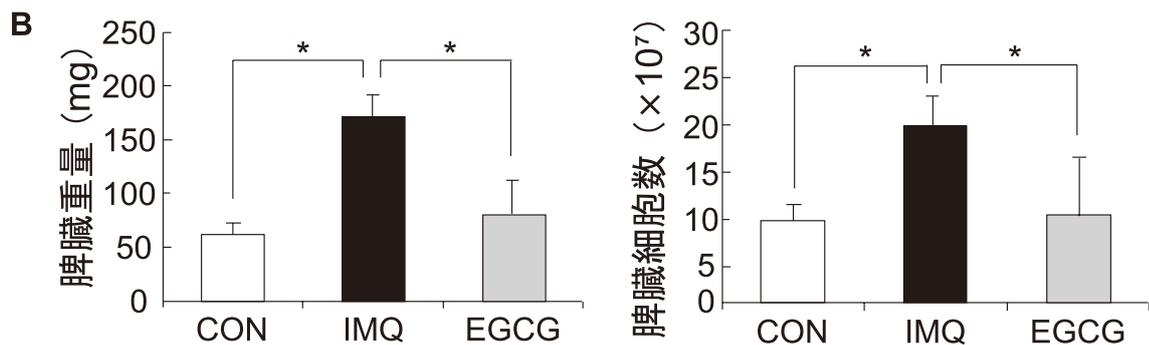
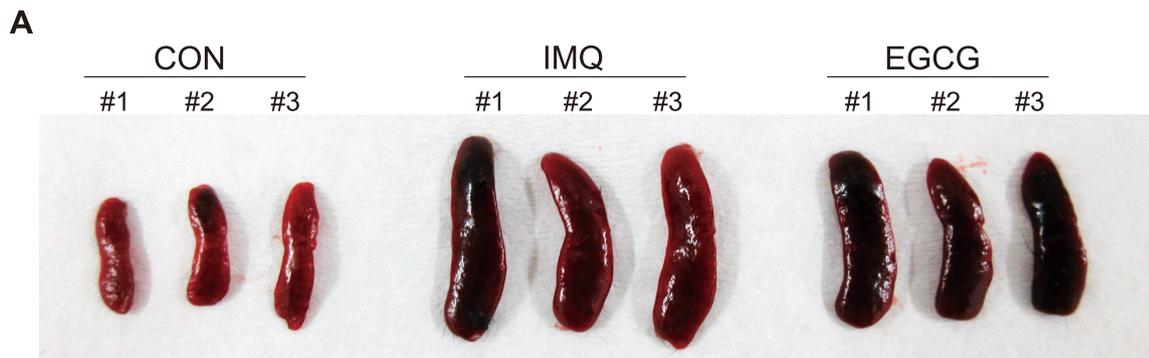


図5 イミキモド誘発乾癬モデルマウス皮膚の脾臓の外観および脾臓重量・細胞数

### 3. 3. 乾癬モデルマウスにおけるPCB2DGの効果

イミキモド誘導乾癬モデルマウスにおけるPCB2DG (図6A) の効果を調べるため、マウス背部を剃毛し、翌日から7日間毎日PBSまたはPCB2DGを経口投与し、剃毛3日後から5日間毎日ワセリンまたはイミキモドクリームを背部皮膚に塗布した。マウス皮膚の外観から、IMQ群で肥厚、鱗屑の症状がみられ、PCB2DG群で症状の抑制が確認された(図6B)。乾癬を評価する際に利用されるPASIを用いてマウス背部皮膚の炎症状態を評価したところ、IMQ群と比較してPCB2DG投与により紅斑、肥厚、鱗屑および総合のスコアが低下傾向にあった(図6C)。

### 4. 考 察

本実験において、マウスの背部を剃毛し5%イミキモドクリームを5日間塗布することにより、乾癬の特徴である肥厚、紅斑、鱗屑、表皮の肥大化が確認され、イミキモド誘発乾癬モデルマウスの確立、それを利用した実験系の確立に成功した。また、EGCGおよびPCB2DGの投与によ

り皮膚の乾癬様症状、表皮の肥大化が抑制されることを確認した。

イミキモドを皮膚に塗布することで皮膚に炎症反応が起こり、角化細胞の増殖を促進し、分化異常を引き起こすことが報告されている<sup>15, 16)</sup>。また炎症に伴い血管の拡張や毛細血管が増加することも知られており、Th17からのサイトカインが血管増殖因子を活性化することによるものであると考えられている<sup>24)</sup>。本実験において、イミキモドの塗布により、紅斑・鱗屑・肥厚の症状および皮膚の血管拡張がみられたことから、イミキモドの塗布により活性化された免疫細胞により乾癬が誘発され、分化したTh17から産生されたサイトカインによる血管増殖因子の活性化によって血管が拡張したと考えられる。また本実験において、EGCGを経口投与することで、皮膚の乾癬様症状が軽減し、皮膚の血管拡張も抑制されることが示された。EGCGは、ナイーブヘルパー T細胞のTh17への分化を抑制することが報告されていることから<sup>25)</sup>、EGCGによるナイーブヘルパー T細胞の分化調節作用により皮膚症状および血管拡

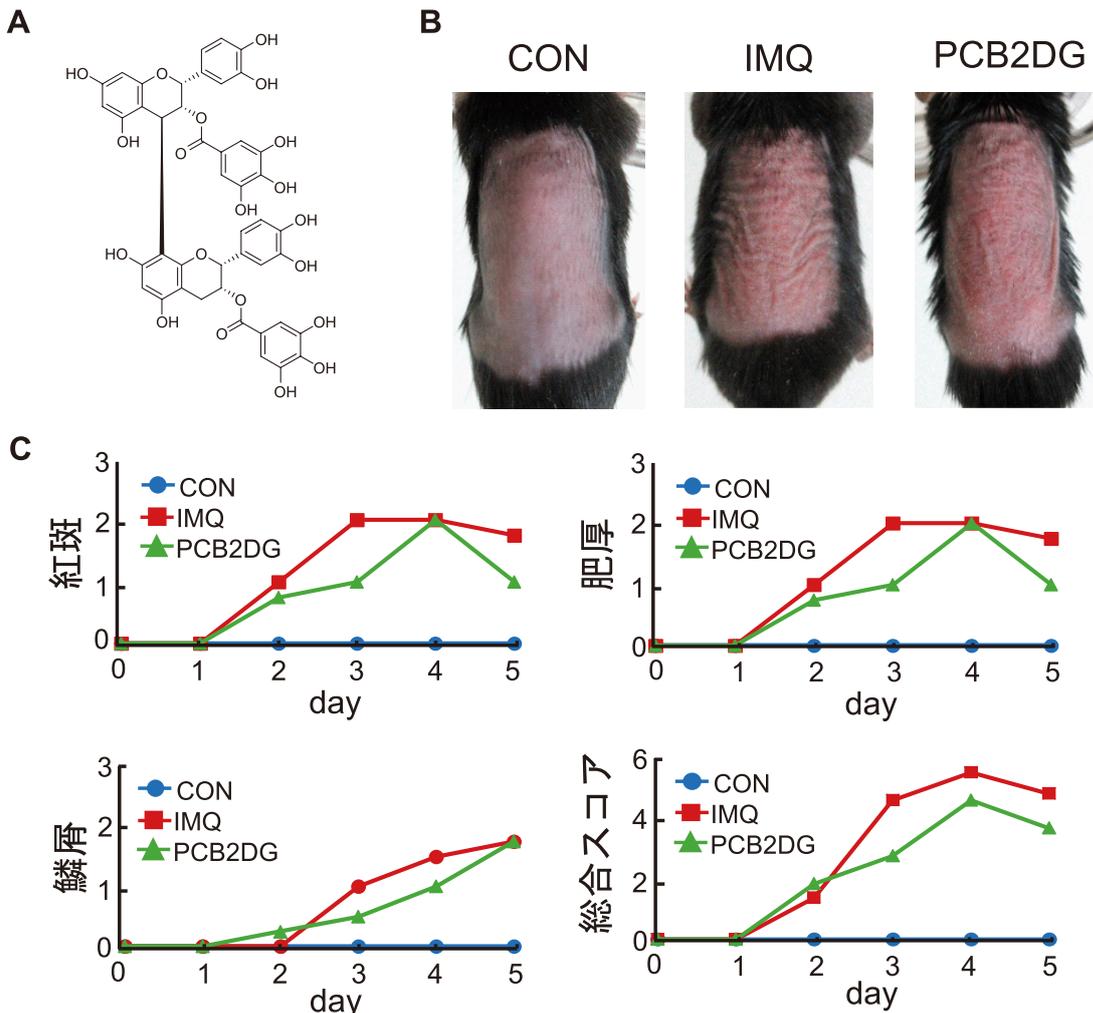


図6 PCB2DGを投与したイミキモド誘発乾癬モデルマウスの皮膚の外観

張が抑制されたと考えられる。

表皮は基底層、有棘層、顆粒層、角質層で構成されており、角化細胞が基底層から角質層へと移動しながら分化することで、表皮の機能が維持される。一方、乾癬を発症した皮膚においては、角化細胞の正常な分化に関与するカスパーゼ 14 の発現が低下し、角化細胞の分化不全や過剰増殖が起これ、症状として鱗屑、肥厚、紅斑などが現れる<sup>26)</sup>。本実験において PASI スコアを算出した結果、肥厚と鱗屑はイミキモドを塗布してから 3 日目で降観察され、その後も経時的に悪化したが、紅斑はイミキモドを塗布して 2～3 日目で一時的に悪化し、その後は徐々に改善されることが示された。一方、EGCG の投与により、肥厚と紅斑のスコアは個体差があったものの IMQ 群と比較してやや低い値を示し、鱗屑と総合スコアは EGCG 群で顕著に低い値を示し、症状の軽減が確認された。EGCG はカスパーゼ 14 合成促進作用および活性化作用を有し、角化細胞の正常な分化を誘導することが報告されている<sup>27)</sup>。そのため、EGCG を投与することによってカスパーゼ 14 の合成が促進され、角化細胞の分化不全や過剰増殖を抑制することで、皮膚症状を軽減したと考えられる。

Th17 の分化に関して、炎症に伴い樹状細胞やマクロファージから産生される IL-6 によりナイーブ T 細胞の STAT3 が活性化し、転写因子である ROR $\gamma$ t の発現によって Th17 は分化する。また、Th17 は IL-17 や IL-22 を産生し、IL-22 も STAT3 を活性化し、乾癬症状の悪化を引き起こすことが報告されている<sup>17)</sup>。また、STAT3 は角化細胞の増殖シグナルとしても知られている<sup>28)</sup>。皮膚の HE 染色の結果、イミキモド誘発乾癬モデルマウスにおいて表皮の肥大化および表皮突起の伸長が観察され、EGCG の投与によりそれらが抑制されることが示された。イミキモドの塗布により IL-6 が産生され、STAT3 が活性化したことで Th17 が増加し、IL-22 産生量の増加に伴う STAT3 のさらなる活性化により、角化細胞の肥大化が誘導されたと考えられる。また、EGCG は STAT3 シグナルを阻害する効果をもつことが報告されていることから<sup>29), 30)</sup>、EGCG の投与により STAT3 シグナルの阻害および Th17 の分化抑制により表皮の肥大化が抑制されたと考えられる。

一般的に全身性の炎症反応によって脾臓が肥大化することが知られており、イミキモド誘発乾癬モデルマウスにおいても脾臓の肥大化が報告されている<sup>5)</sup>。本実験において、イミキモドの塗布により脾臓が肥大化し、脾臓重量、脾臓細胞数が有意に増加したことから、全身性の炎症反応が起こったと考えられる。また、EGCG は抗炎症作用を有することが報告<sup>21)</sup> されていることから EGCG の抗炎症作用により全身性の炎症反応が抑制され、脾臓の肥大化が抑制されたと予想される。

これまでに、T 細胞を刺激した条件下で PCB2DG を添

加したところ、IL-17 や TNF- $\alpha$ 、IL-6 などのサイトカイン産生を抑えることを報告している<sup>23)</sup>。また、PCB2DG は LPS 刺激で誘発する炎症性サイトカインの産生を抑えることも確認している。そのため、PCB2DG の投与によるイミキモド誘発乾癬の抑制効果のメカニズムとしては、IL-17 や炎症性サイトカインの低下によるものであると考えられる。今後は、PCB2DG の乾癬抑制効果に関わるサイトカイン産生の抑制について、マウスの脾臓や皮膚組織で、サイトカイン mRNA 発現ならびに免疫組織学的解析を実施することにより、詳細を明らかにする必要がある。

## 5. 総括

本実験で確立したイミキモド誘発乾癬モデルマウスの解析および EGCG および PCB2DG による乾癬抑制作用の検証により、過去の知見と同様の結果が得られたことから、イミキモド誘発乾癬モデルマウスを用いた実験系の確立に成功した。この実験系を用いて、ポリフェノールをはじめとする様々な食品由来成分による乾癬への影響を評価することにより、過剰な免疫反応や慢性炎症などを特徴とする皮膚疾患を改善する成分の発見やメカニズムの解明、それを利用した機能性食品の開発が期待される。

## 謝辞

PCB2DG をご供与頂きました信州大学農学部の真壁秀文教授に深く感謝申し上げます。また、本研究の遂行にあたり、ご援助を賜りました公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団に深く感謝申し上げます。

## (引用文献)

- 1) Rosa P, Deborah P.M. S, Christopher E.M. G, Darren M. A. Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. *Journal of Investigative Dermatology*, 2013, 133, 2, 377-85.
- 2) Boehncke WH, Schon MP. Etiology and Pathogenesis of Psoriasis. *PlumX Metrics*, 2015, 386, 983-94.
- 3) Vanessa LP, Karen Y, Brian JZ, Katherine LJ, Paul AK. Genetic pathways in disorders of epidermal differentiation. *Trends in Genetics*, 2013, 29, 1, 31-40.
- 4) Michelle A. L, Anne M. B, James G. K. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature*, 2007, 445, 866-73.
- 5) Leslie F, Sabine M, Jane SAV, Marius K, Louis B, Jon DL, Ferry C, Anne-MM, Edwin F, Errol PP, Erik L. Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice Is Mediated via the IL-23/IL-17 Axis. *J Immunol*, 2009, 182, 9, 5836-45.
- 6) Papp KA, Tying S, Lahfa M, Prinz J, Griffiths CEM, Nakanishi AM, Zitnik R, Van De Kerkhof PCM.

- A global phase III randomized controlled trial of etanercept in psoriasis: safety, efficacy, and effect of dose reduction. *British journal of Dermatology*, 2005, 152, 6, 1304-12
- 7) Mark L, Bruce S, Alan M, Kenneth G, Jolanta W, Dr.Med., Lluís P, Kim P, Lynda S, Darryl T, Francisco K, April W. A, Georg S. Phase 3 Studies Comparing Brodalumab with Ustekinumab in Psoriasis. *N Engl J Med*, 2015, 373, 1318-28.
- 8) Kenneth BG, Andrew B, Kim AP, Richard GL, Thomas L, Mamitaro O, Kristian R, David A, Susan GB, Daniel KB, Gregory SC, Janelle E. Phase 3 Trials of Ixekizumab in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis. *N Engl J Med*, 2016, 375, 345-56.
- 9) Wu, JK, Siller G, Strutton G. Psoriasis induced by topical imiquimod. *Australas. J. Dermatol.* 2004, 45, 47-50.
- 10) Gilliet M, Conrad C, Geiges M, Cozzio A, Thurlimann W, Burg G, Nestle FO, Dummer R. Psoriasis triggered by Toll-like receptor 7 agonist imiquimod in the presence of dermal plasmacytoid dendritic cell precursors. *Arch. Dermatol.* 2004, 140, 1490-95.
- 11) Palamara F, Meindl S, Holcman M, Luhrs P, Stingl G, Sibilio M. Identification and characterization of pDC-like cells in normal mouse skin and melanomas treated with imiquimod. *J. Immunol.* 2004, 173, 3051-61.
- 12) Schon MP, Schon M. Imiquimod: mode of action. *Br. J. Dermatol.* 2004, 157, 8-13.
- 13) Gibson SJ, Lindh JM, Riter TR, Gleason RM, Rogers LM, Fuller AE, Oesterich JL, Gorden KB, Qiu X, McKane SW. Plasmacytoid dendritic cells produce cytokines and mature in response to the TLR7 agonists, imiquimod and resiquimod. *Cell Immunol.* 2002, 218, 74-86.
- 14) Katia B, François-X. B, Martine G, Austin L. G, Jean-C. L, Franck M. IL-22 Inhibits Epidermal Differentiation and Induces Proinflammatory Gene Expression and Migration of Human Keratinocytes. *J Immunol.* 2005, 174, 6, 3695-702.
- 15) Fujisawa H, Shivji G. M, Kondo S, Wang B, Tomai M. A, Miller R. L, Sauder D. N. Effect of a novel topical immunomodulator, S-28463, on keratinocyte cytokine gene expression and production. *J. Interferon Cytokine Res.* 1996, 16, 555-59.
- 16) Kono T, Kondo S, Pastore S, Shivji GM, Tomai MA, McKenzie RC, Sauder DN. Effects of a novel topical immunomodulator, imiquimod, on keratinocyte cytokine gene expression. *Lymphokine Cytokine Res.* 1994, 13, 71-76.
- 17) Lowes, Bowcock MA, Krueger AM. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature*, 2007, 445, 866-873.
- 18) Shanzao C, Kesheng H, Hu L, Juren C, Yanfang Y, Hezhen W, and Qun W. Isogarcinol Extracted from *Garcinia mangostana* L. Ameliorates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Skin Lesions in Mice. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65, 4, 846-857.
- 19) Liu C, Liu H, Lu C, Deng J, Yan J, Chen H, Wang Y, Liang C.L, Wei J, Han L, Dai Z. Kaempferol attenuates imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in a mouse model. *British Society for Immunology*, 2019, 198, 3, 403-15.
- 20) Katiyar SK, Afaq F, Perez A, et al. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin 3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis*, 2001, 22, 2, 287-94.
- 21) Dayong W, Junpeng W, Munkyong P, Simin N.M. Green tea EGCG, T cells, and T cell-mediated autoimmune diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, 2012, 33, 1, 107-18.
- 22) Meeran SM, Akhtar S, Katiyar SK. Inhibition of UVB-induced skin tumor development by drinking green tea polyphenols is mediated through DNA repair and subsequent inhibition of inflammation. *J Invest Dermatol*, 2009, 129, 5, 1258-70.
- 23) Tanaka S, Furuya K, Yamamoto K, Yamada K, Ichikawa M, Suda M, Makabe H. Procyanidin B2 gallates inhibit IFN- $\gamma$  and IL-17 production in T cells by suppressing T-bet and ROR $\gamma$ t expression. *Int Immunopharmacol.* 2017 44, 87-96.
- 24) Azael TC, Isaí MT, Sandra RM, Fernando GC, Juan C, Cancino-D, Ernesto AVS, Mario E. Cross Talk between Proliferative, Angiogenic, and Cellular Mechanisms Orchestrated by HIF-1 $\alpha$  in Psoriasis. *Mediators of Inflammation*, 2015, 607363, 11.
- 25) Dayong W, Junpeng W, Munkyong P, Simin NM. Green tea EGCG, T cells, and T cell-mediated autoimmune diseases. *Molecular Aspects of Medicine*, 2012, 33, 107-18.
- 26) Lippens S, Kockx M, Knaapen M, Mortier L, Polakowska R, Verheyen A, Garmyn M, Zwijsen A, Formstecher P, Huylebroeck D, Vandenabeele P, Declercq W. Epidermal differentiation does not involve the pro-apoptotic executioner caspases, but is associated with caspase-14 induction and processing. *Cell Death & Differentiation*, 2000, 7, 1218-24.

- 27) Stephen H, Douglas D, James B, Douglas S, Walsh, Joseph W, Haiyan Q, Julia W, Henna P, George S, Wendy B, Bollag. Green tea polyphenol induces caspase 14 in epidermal keratinocytes via MAPK pathways and reduces psoriasiform lesions in the flaky skin mouse model. *Experimental Dermatology*, 2007, 678-84.
- 28) Shigetoshi S, Keith SC, Steve C, John C, Mary P, Kaoru K, Satoshi I, Brian J N, John D G. Stat3 links activated keratinocytes and immunocytes required for development of psoriasis in a novel transgenic mouse model. *Nature Medicine*, 2005, 43-49.
- 29) Gyuman P, Byung S Y, Jai H M, Bona K, Eun K J, Sejong O, Hyunggee K, Hea J S, Joo Y N, ChilHwan O, Seungkwon Y. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-Gallate Suppresses Collagen Production and Proliferation in Keloid Fibroblasts via Inhibition of the STAT3-Signaling Pathway. *Elsevier*, 2008, 128, 10, 2429-41.
- 30) Yang W, Xuequn R, Chaoyang D, Lu Y, Erfu Y, Tao G, Yanmin L, Marvin X X. Mechanism of the inhibition of the STAT3 signaling pathway by EGCG. *Oncology Reports*, 2013, 30, 6, 1021-335