

平成 22 年 5 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19790777

研究課題名（和文） 好塩基球を標的としたアトピー性皮膚炎の新治療の試み

研究課題名（英文） The New Treatment of Atopic dermatitis Targeting Basophils

研究代表者

高山 かおる（TAKAYAMA KAORU）

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10420283

研究成果の概要（和文）：ヒト皮膚疾患における病変部好塩基球

各種皮膚疾患のなかで、病変部に好塩基球の存在が確認される頻度の高い疾患は、アトピー性皮膚炎、痒疹、蕁麻疹、水疱性類天疱瘡、好酸球性膿疱性毛包炎、アナフィラクトイド紫斑などであった。末梢血中の好塩基球の活性化状態を CD203c 発現を指標に評価した。蕁麻疹、痒疹患者において健常人より有意に高い CD203c 発現がみられた。好塩基球がその発症に必須とされている TNP-IgE 依存性慢性アレルギー反応モデル(IgE-CAI)を用いて PGD2 受容体の関与を検証した。PGD2 受容体の一つである CRTH2 受容体を欠損させたマウスでの IgE-CAI は wild-type マウスに比して減弱していた。

研究成果の概要（英文）：Basophils are important initiator and effector cells in allergic diseases. However, the involvement of basophils in allergic skin diseases has yet to be determined. In this study, we assessed the infiltration and activation of basophils in 18 dermatological diseases. Immunohistochemical staining revealed that basophil infiltration was detected in the lesional skin of atopic dermatitis, urticaria, prurigo, bullous pemphigoid, eosinophilic pustular folliculitis, and a naphylactoid purpura, but not in skin lesions of psoriasis. Blood basophils in urticaria and prurigo patients were activated as assessed by CD203c expression with flowcytometry. IgE-mediated chronic allergic inflammation (IgE-CAI)

was alleviated in mice lacking CRTH2 gene, but not DP gene. Administration of CRTH2-specific antagonist suppressed IgE-CAI of wild-type mice.

Thus, basophils may participate in the inflammation of a variety of allergic skin diseases. In addition, CRTH2, a PGD2 receptor, could be a therapeutic target of basophil-mediated chronic allergic inflammation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	540,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚生理学

1. 研究開始当初の背景

好塩基球は末梢血中に存在する顆粒球の一つである。好塩基球は高親和性 IgE レセプターを発現し、IgE を介した抗原刺激によりヒスタミンなどのメディエータを分泌する。しかしながら、皮膚疾患における好塩基球の役割やその重要性は全くわかっていない。

IgE はこれまで即時型反応においてその役割を発揮するものとされてきたが、最近の研究では慢性のアレルギー性炎症の成立にも関与することがわかってきた。IgE を恒常的に過剰発現するマウスに抗原を皮内投与すると即時反応に続いて 8 時間後に遅発反応、そして 5 日前後に非常に強い第 1 相反応がみられる。組織中にリンパ球、好酸球の浸潤が顕著で、また表皮の肥厚もみられる(Chronic inflammation of the skin can be induced in IgE transgenic mice by means of a single challenge of multivalent antigen. Sato E. et al. J. Allergy Clin. Immunol. 111; 143, 2003.)。そのためこの第 1 相反応はアトピー性皮膚炎の病態の一部を反応しているモデルであると考えられている。最近当大学免疫アレルギー分野の烏山一教授らのグループは皮膚科との共同研究において、IgE 誘導性第 1 相反応の発症の責任細胞が好塩基球であることを示した。同時にマスト細胞やリンパ球の存在にはほとんど影響されないことも明らかにしている(Basophils play a critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. MUKAI K. et al. Immunity 23; 191, 2005.)。この驚くべき現象は、従来のアレルギー性炎症の病態に関する概念をくつがえすものであり、今後炎症反応における好塩基球の存在意義をあらためて検証することが必要であると考えられる。また、アレル

ギー疾患の新たな治療戦略として好塩基球がその標的となる可能性のあることを示唆している。

しかしながら、ヒト好塩基球は通常の染色では染めだせないことから、皮膚疾患における存在についてはこれまで十分な検討がなされていない。

2. 研究の目的

今回の研究では、ヒトアトピー性皮膚炎病変部に塩基球が存在するか否かを好塩基球特異抗体を用いて観察し、さらに末梢血での好塩基球の活性化状態を検証する。また最近プロスタグランジン D2 (PGD2) の炎症における関与が注目されていることから、その受容体 CRTH2 (chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells) と DP の役割について動物モデルを用いて検証を試みる

3. 研究の方法

1 好塩基球免疫組織染色

ヒト好塩基球特異抗体 (BB1 抗体) を用い、種々の皮膚疾患病変部での好塩基球の有無や分布を観察。対象としたのは 18 疾患 136 症例である。内訳はアトピー性皮膚炎、蕁麻疹、痒疹、尋常性乾癬、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、好酸球性膿疱性毛包炎、アナフィラクトイド紫斑、水痘・帯状疱疹、肥満細胞症、脂漏性角化症、母斑細胞母斑、基底細胞癌、好酸球性筋膜炎、薬疹、強皮症、虫刺症、白癬症である。

2 好塩基球活性化状態の検討

患者末梢血を用いて CRTH2(+)CD3(-)好塩基球を同定し、これらにおける CD203c 発現をフロサイトメトリー法にて観察し、活性化状態を測定。

3 マウス IgE 依存性慢性アレルギー反応の誘導

BALB/c マウスに TNP(trinitrophenyl)-特異的 IgE を投与し、翌日に TNP-OVA(ovalbumin)を耳介皮下に投与。耳介腫脹の変化を測定。PGD2 受容体欠損マウスでの変化や PGD2 受容体アンタゴニストの治療効果などを観察。

4 . 研究成果

1 ヒト皮膚疾患における病変部好塩基球
各種皮膚疾患のなかで、病変部に好塩基球の存在が確認される頻度の高い疾患は、アトピー性皮膚炎、痒疹、蕁麻疹、水疱性類天疱瘡、好酸球性膿疱性毛包炎、アナフィラクトイド紫斑などであった。肥満細胞症、尋常性乾癬、腫瘍病変には全く認められなかった。アトピー性皮膚炎病変部における好塩基球数は他の疾患に比べてむしろ低い傾向にあったが、ダニ抗原でパッチテストを行った陽性反応部位では顕著に好塩基球が浸潤していた。

2 末梢好塩基球の活性化について
末梢血中の好塩基球の活性化状態を CD203c 発現を指標に評価した。蕁麻疹、痒疹患者において健康人より有意に高い CD203c 発現がみられた。尋常性乾癬患者の好塩基球では活性化はみられなかった。アトピー性皮膚炎患者では発現のばらつきが大きく、健康人との有意差を検出できなかった。しかし、アトピー性皮膚炎患者の中には明らかに高いレベルの CD203c を発現している群がみられた。

3 IgE 依存性慢性アレルギー性炎症 (IgE-CAI: chronic allergic inflammation) における PGD2 受容体の関与
好塩基球がその発症に必須とされている TNP-IgE 依存性慢性アレルギー反応モデル (IgE-CAI) を用いて PGD2 受容体の関与を検証した。PGD2 受容体の一つである CRTH2 受容体を欠損させたマウスでの IgE-CAI は wild-type マウスに比して減弱していた。一方、もう一つの受容体である DP 受容体を欠損させたマウスでは反応に変化はみられなかった。また CRTH2/DP 両受容体欠損マウスでは CRTH2 単独欠損マウスと同様に反応が減弱していた。さらに wild-type マウスに CRTH2 特異的アンタゴニスト (CAY-10471, 2mg/kg) を経口投与したところ、反応が抑制された。耳介腫脹が減弱は組織中の好塩基球数減少と関連していた。

このように好塩基球は従来考えられてきた以上に種々のアレルギー性皮膚疾患において病変部に浸潤していることがわかった。ま

た末梢好塩基球の活性化をともなっていることもわかった。さらにアトピー性皮膚炎モデルの一つであり好塩基球の重要性が示されている IgE 依存性慢性アレルギー反応において PGD2 受容体である CRTH2 の関与が明らかとなり、これを標的とする治療が有用であることが明らかになった。今後、他の多くの疾患においても好塩基球の意義についても検討していく必要があると思われる。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)
接触皮膚炎診療ガイドライン 高山かおる
他 日本皮膚科学会雑誌 査読なし 119
(9) 1757-1793, 2009

[学会発表](計3件)
マスト細胞・好塩基球の遺伝子発現制御
炎症性皮膚疾患病変部における好塩基球
の分布 伊藤勇一、高山かおる 日本ア
レルギー学会 秋季大会 2008年 10.
29 秋田市
抗 TNF 製剤による薬疹 高山かおる 日
本アレルギー学会 春季大会 2008年
6.4 岐阜市

[図書](計 件)
[産業財産権]
出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

高山 かおる (TAKAYAMA KAORU)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10420283

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

研究者番号：10420283