

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17800

研究課題名（和文）ケラチノサイト由来神経ペプチドによる皮膚2型炎症反応制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of keratinocytes-derived neuropeptides for the regulation of type 2 inflammation

研究代表者

松尾 佳美（Matsuo, Yoshimi）

広島大学・病院（医）・助教

研究者番号：50754355

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト末梢血から分離したILC2にNMU刺激を行い、IL-13、IL-5が放出されることをELISA法を使って確認した。また、qPCR法により、末梢血ILC2にNMUの受容体であるNMUR1が発現していることを確認した。これまでマウスの消化管や肺組織におけるNMUによるILC2の活性化が多く報告されていたが、本研究により、ヒトの末梢血のILC2においてもNMUによる活性化が引き起こされることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト末梢血のILC2はNMU受容体を発現しており、NMUにより活性化されてIL-5、IL-13等の炎症性サイトカインを放出することが示された。今後の研究により詳細なNMUとILC2の役割を解明することができれば、複雑、かつ未解明なアトピー性皮膚炎等の2型炎症アレルギー疾患の病態解明と、従来よりも効果的な治療薬の開発に繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the effect of NMU on group 2 innate lymphoid cells (ILC2) and found the release of IL-13 and IL-5 from ILC2 isolated from human peripheral blood in response to NMU. Consistently, we revealed that the expression of NMU receptor (NMUR1) in human peripheral ILC2. While the activation of ILC2 in the intestinal tract and lung in mice by NMU was already reported, these results suggest that NMU activate ILC2s in human peripheral blood are also activated by NMU. These findings may enable us to develop a strategy to regulate the ILC2-related allergic diseases.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：自然免疫 自然リンパ球 神経ペプチド マスト細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経ペプチドの一種である Neuromedin-U (NMU) は、食欲低下、血圧上昇などの幅広い生理活性を持つ。我々はこれまでに、NMU がヒト皮膚ケラチノサイトに貯蔵され、自然免疫受容体や物理化学受容体を介して速やかに放出されること、さらに、NMU が皮膚マスト細胞を活性化し、ヒスタミン等の炎症惹起物質を放出することを発見した。一方、マウスの消化管や肺組織では、末梢神経から分泌される NMU がアレルギーの発症に深く関与する 2 型自然リンパ球 (ILC2) を活性化し、2 型炎症の誘発に関与していることが報告されている。また、皮膚マスト細胞、ILC2 やその他の免疫細胞の活性化は、アトピー性皮膚炎等の皮膚アレルギー疾患と密接に関与していることも明らかになりつつある。そのため、皮膚ケラチノサイトが組織内外の環境変化を敏感に感知し、マスト細胞や ILC2 等の免疫細胞とコミュニケーションをとるためのツールの 1 つとして NMU が重要な役割を担っているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト皮膚由来マスト細胞、ヒト末梢血由来 ILC2、好酸球、T 細胞という独自の研究材料を利用して、NMU がどのように皮膚マスト細胞、ILC2 を活性化し、その後の好酸球、T 細胞活性化に寄与するか明らかにする。NMU は皮膚組織中の特にケラチノサイトや末梢神経終末に多く含まれていることが知られている。これまでの我々の検討から、少なくとも種々の刺激によりケラチノサイトから NMU が放出され、皮膚マスト細胞を活性化することを明らかにしてきた。しかし NMU が ILC2 を含む他の免疫担当細胞を活性化する機序や、NMU によって活性化されたマスト細胞が他の免疫細胞を活性化する機序は明らかではない。

本研究を遂行することにより、微生物や物理化学的刺激等の外界からのさまざまな刺激によりケラチノサイトから神経ペプチドである NMU が放出され、さらに、放出された NMU がマスト細胞のみならず、ILC2 の活性化とその後の好酸球、T 細胞を活性化する経路を明らかにすることができれば、アトピー性皮膚炎をはじめとする複雑、かつ未解明な皮膚アレルギー病態の全容解明と、従来よりも効果的な治療薬の探索に繋がると期待される。

3. 研究の方法

どのような刺激により皮膚ケラチノサイトから NMU が放出されるか、また、マスト細胞と ILC2 以外の NMU 受容体発現細胞を同定し、それらの細胞がどのように 2 型炎症反応に関与しているか明らかにするため、次の 3 つのステップを計画した。

- (1) 皮膚組織における NMU の局在とその産生・放出機構の解明
- (2) NMU によるヒト皮膚マスト細胞・ILC2 の活性化機構の解明
- (3) ケラチノサイト-免疫細胞の 3 次元培養評価モデルの開発と NMU 刺激に伴うマスト細胞・ILC2 を介した 2 型炎症の誘導についての検討

それぞれの項目における成果は以下に示す。

4. 研究成果

- (1) 皮膚組織における NMU の局在とその産生・放出機構の解明

これまでの予備検討と同様に、NMU がケラチノサイトに豊富に含まれる一方で、線維芽細胞や皮膚マスト細胞にはないことを示した。また、NMU は Transient Receptor Potential (TRP) チャネル等の刺激によりケラチノサイトから放出されることを示した。

(2)NMU によるヒト皮膚マスト細胞・ILC2 の活性化機構の解明

ヒト末梢血より ILC2 をセルソーターで分離し、フィーダー細胞（放射線処理したヒト末梢血単核球）と IL-2 共存下で 5 週間程度培養することで、末梢血由来 ILC2 を増殖させることに成功した。また、末梢血 ILC2 には NMU 受容体（NMUR1）が発現していることを qPCR 法により確認した。さらに、増殖した ILC2 を、上皮由来サイトカインである IL-33、もしくは NMU で刺激を行った結果、いずれの刺激においても炎症性サイトカインである IL-13、IL-5 が放出されることを ELISA 法で確認した。また、これらの反応はアレルギー炎症に重要である上皮由来サイトカイン、thymic stromal lymphopoietin（TSLP）添加により増強された。

これまで、マウスの消化管や肺組織における ILC2 と NMU の関係については報告されていたが、末梢血 ILC2 との関係については不明な点が多く残されていた。今回の結果から、ヒトの末梢血由来の ILC2 には NMUR1 が発現しており、おそらく NMUR1 を介して NMU によって活性化されることが明らかとなった。

(3)ケラチノサイト-免疫細胞の 3 次元培養評価モデルの開発と NMU 刺激に伴うマスト細胞・ILC2 を介した 2 型炎症の誘導についての検討

JTEC 製の 3 次元培養表皮 LabCyte EPI-MODEL により、3 次元皮膚組織の構築を行った。今後、本モデルを利用して、皮膚組織と ILC2 のより詳細な関係を検討する。

今後、ヒトケラチノサイト由来 NMU と ILC2、さらに皮膚マスト細胞の詳細な関係を明らかにすることができれば、ヒト 2 型炎症における NMU とその受容体をターゲットとした治療法・治療薬の開発につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------