

平成23年6月10日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592001

研究課題名(和文)

ヒスタミンH4アゴニストが結合する新規GPCRの同定と鼻アレルギー治療への展開
 研究課題名(英文) Identification of novel GPCR coupled to histamine H4 receptor agonists and its use for the treatment of allergic rhinitis

研究代表者

岡野 光博 (OKANO MITSUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60304359

研究成果の概要(和文)：ヒスタミンH4アゴニストにはアレルギー特異的なサイトカイン産生抑制作用があり、GPCRであるメラノコルチン1受容体発現亢進作用を介していることを明らかにした。さらに、メラノコルチン1受容体はリガンドである α -メラノサイト刺激ホルモン(α -MSH)と結合することによりアレルギー特異的なTh2サイトカイン産生を抑制した。 α -MSHはB細胞および単球上の共刺激分子発現を抑制することにより鼻アレルギーを制御する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Histamine H4 receptor (H4R) agonists suppress allergen-specific cytokine production in humans. H4R agonists induced melanocortin 1 receptor, the GPCR, expression in peripheral blood mononuclear cells. Alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH), the ligand to melanocortin 1 receptor, suppresses allergen-specific cytokine production and co-stimulatory molecule expression on B cells and monocytes. These results suggest that H4R agonists and analogues related to α -MSH are therapeutic targets for allergic rhinitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：ヒスタミン、アレルギー性鼻炎、メラノコルチン受容体、 α -メラノサイト刺激ホルモン、サイトカイン、共刺激分子

1. 研究開始当初の背景

ヒスタミンはアレルギー性鼻炎の即時相で肥

満細胞から放出されるメディエーターである。ヒスタミンはヒスタミン受容体 (HR)と結合し生理活性を発揮するが、現在まで HR として H1~H4 の4種類が同定されている。いずれもGタンパク共役型受容体

(G-protein-coupled receptor: GPCR) である。なかでもH4Rは2000年に報告された最も新しいHRであり、リンパ球や肥満細胞などの免疫担当細胞に選択的に発現していることから免疫系への関与が注目されている。

我々はこれまでに、スギ花粉やダニなどのアレルゲンに特異的なヒトヘルパーT細胞応答の機能解析を行っている。我々は世界に先駆けてH4とアレルゲン特異的ヒトT細胞応答との関連について検討し、H4Rアゴニスト、即ちH4Rを刺激する化合物がH4Rを介さずスギ花粉に特異的なヒトT細胞応答を抑制することを報告した。この結果は、H4アゴニストは未知のGPCRとの結合を介してT細胞機能を抑制している可能性を強く示唆している。

2. 研究の目的

H4Rアゴニストのアレルゲン特異的なヒトT細胞応答抑制の作用メカニズムについて、特にGPCRの観点から解析する。さらにH4Rアゴニストおよび新規GPCRによるアレルギー性鼻炎治療への臨床応用について検討する。

3. 研究の方法

(1) H4Rアゴニストにより発現が誘導されるGPCRの同定

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) にdimapritやclobenpropitなどのH4Rアゴニストを添加し、変動する遺伝子をマイクロアレイ解析にて検出した。

(2) メラノコルチン受容体 (MC1R) - α -メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) のスギアレルゲン特異的サイトカイン産生に対する調節作用

スギ花粉症患者より採血を行い、PBMCを分離した。PBMCをスギアレルゲンCry j 1にて刺激する際に種々の濃度の α -MSHを添加した。培養72時間後に上清を回収し、上清中のIL-5およびIL-13濃度をELISAにて測定した。

(3) MC1R- α -MSHによる共刺激分子発現の調節作用

スギ花粉症患者のPBMCをCry j 1にて刺激する際に α -MSHを添加した。12時間後に細胞を回収し、CD80およびCD86の発現をフローサイトメーターにて観察した。

(4) MC1R- α -MSHによるB細胞機能への修飾作用

ヒトPBMCをIL-4および抗CD40抗体にて刺激し、7日後の培養上清中のIgE濃度をELISAにて測定した。刺激時に、 α -MSHを添加し、IgE産生の変化を観察した。またPBMCに α -MSHを添加し、CD19陽性細胞上のCD40発現の変化を観察した。

4. 研究成果

(1) H4Rアゴニストにより発現が誘導されるGPCRの同定

Clozapineと同様に、dimapritやclobenpropitのPBMCへの添加は、約1%の遺伝子の発現を亢進し、その中にはメラノコルチン受容体 (MC1R) が含まれていた。

(2) メラノコルチン受容体 (MC1R) - α -メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) のスギアレルゲン特異的IL-5産生に対する調節作用

スギ花粉症PBMCはCry j 1刺激に対して有意なIL-5およびIL-13産生を示した。 10^{-12} ~ 8 Mの α -MSHはCry j 1に特異的なIL-5産生を有意に抑制した。

(3) MC1R- α -MSHによる共刺激分子発現の調節作用

α -MSHの添加はCry j 1刺激に対するB細胞

および単球上のCD86の発現を有意に抑制した。一方、CD80発現に関しては有意な変動を認めなかった。

(4) MC1R- α -MSHによるB細胞機能への修飾作用

ヒトPBMCはIL-4および抗CD40抗体による刺激に対してIgE産生を示した。 α -MSHの添加によるIgE濃度は、非添加の場合と比較して低下するものの、検討した濃度では有意な差を示さなかった。

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15件)

- ① Okano M, Fujiwara T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Yasueda H, Nishizaki K, Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by peripheral blood mononuclear cells in allergic rhinitis, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 査読有、127巻、2011、277-279
- ② Hosoya K, Satoh T, Yamamoto Y, Saeki K, Igawa K, Okano M, Moriya T, Imamura O, Nemoto Y, Yokozeki H, Gene silencing of STAT6 with siRNA ameliorates contact hypersensitivity and allergic rhinitis, *Allergy*, 査読有、66巻、2011、124-131
- ③ 岡野光博, 難波弘行, 佐橋紀男, 2011年ヒノキ科花粉飛散予測、アレルギーの臨床、31巻、2011、21-26
- ④ 岡野光博, 上気道からみたOne airway, one disease, 喘息, 査読無、23巻、2010、643-652
- ⑤ 岡野光博, 親がアレルギー性鼻炎ですが、子どもにも遺伝しますか?、*JOHNS*, 査読無、26巻、2010、1402-1405
- ⑥ 岡野光博, DP受容体、鼻アレルギーフォロンティア, 査読無、10巻、2010、34-38
- ⑦ Ichihara Y, Okano M, Nishioka K, Manabe N, Ichihara N, Jitsunari F, Fujiwara T, Nishizaki K, Aging exacerbates restraint stress-induced inhibition of antigen-specific antibody production in mice, *Allergology International*, 査読有、58巻、2009、119-124
- ⑧ Okano M, Mechanisms and clinical implications of glucocorticosteroids in the treatment of allergic rhinitis, *Clinical and Experimental Immunology*, 査読有、158巻、2009、164-173
- ⑨ 岡野光博, 抗ヒスタミン薬, *MB ENT*, 査読無、104巻、2009年、40-48
- ⑩ 岡野光博, 発症のメカニズムと鼻炎におけるアレルギー性鼻炎の位置づけ、アレルギーの臨床, 査読無、29巻、2009、24-29
- ⑪ Okano M, Otsuki N, Azuma M, Fujiwara T, Kariya S, Sugata Y, Higaki T, Kino K, Tanimoto Y, Okubo K, Nishizaki K, Allergen-specific immunotherapy alters the expression of BTLA, a co-inhibitory molecule, in allergic rhinitis, *Clinical and Experimental Allergy*, 査読有、38巻、2008、1891-1900
- ⑫ Okubo K, Goto M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, Masuyama K, Okamoto Y, Kobayashi M, A randomized-double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. *Allergology International*, 査読有、57巻、2008、265-275
- ⑬ Nomiya R, Okano M, Fujiwara T, Maeda M, Kimura Y, Kino K, Yokoyama M, Hirai H, Nagata K, Hara T, Nishizaki K, Nakamura M, CRTH2 plays an essential role in the

- pathophysiology of Cry j 1-induced pollinosis in mice、 Journal of Immunology 査読有、180巻、2008、5680-5688
- ⑭ Kimura N, Kuraki M, Meada M, Okano M, Yokoyama M, Kino K, Glycoform analysis of Japanese cypress pollen allergen, *Chao* 1: Comparison of glycoform of cedar and cypress pollen allergens、 *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 査読有、72巻、2008、485-491
- ⑮ Okano M、 Current status of intranasal glucocorticoids in the management of allergic rhinitis、 *Clinical and Experimental Allergy Reviews*、 査読有、8巻、2008、57-62
〔学会発表〕 (計8件)
- ① 岡野光博、檜垣貴哉、牧原靖一郎、仮谷伸、金井健吾、春名威範、西崎和則、アレルギー性鼻炎における末梢血単核細胞の抗原特異的IL-31産生とその臨床的特徴、第29回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2011/2/11、大分
- ② 岡野光博、アレルギー性鼻炎の感作・発症・増悪因子としてのTh2型サイトカインの関与とその制御、第49回日本鼻科学会学術講演会、2010/8/28、札幌
- ③ Mitsuhiro Okano、 Role of prostaglandin D2 in the pathophysiology of allergic rhinitis、 The 7th International Symposium on Tonsils and Mucosal Barriers of the Upper Airway、2010/7/8、Asahikawa
- ④ Mitsuhiro Okano、Seiichiro Makihara、Takaya Higaki、Tazuko Fujiwara、Kazunori Nishizaki、 Role of interleukin-31 in the pathophysiology of Japanese cedar/cypress pollinosis、 23rd Congress of the European Rhinologic Society and 29th International Symposium of Infection and Allergy of the Nose、2010/6/22、Geneva
- ⑤ 岡野光博、檜垣貴哉、牧原靖一郎、仮谷伸、野田洋平、西崎和則、スギ・ヒノキ抗原に対する末梢血単核細胞のサイトカイン産生と免疫療法による制御、第111回日本耳鼻咽喉科学会学術講演会、2010/5/21、仙台
- ⑥ 岡野光博、アレルギー性鼻炎に対する免疫療法のABC、第22回日本アレルギー学会春季臨床大会、2010/5/8、京都
- ⑦ 岡野光博、春季花粉症の病態と治療におけるヒノキ花粉のインパクト、第59回日本アレルギー学会秋季学術大会、2009/10/30、秋田
- ⑧ 春名威範、坂下雅文、岡野光博、菅田裕士、檜垣貴哉、牧原靖一郎、藤枝重治、西崎和則、メラノサイト刺激ホルモンによるCry j 1特異的ヒトT細胞応答の制御作用、第27回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2008/2/14、千葉
- 〔図書〕 (計6件)
- ① 岡野光博、最新医学社、新しい診断と治療のABC12 アレルギー性鼻炎、2011、43-52
- ② 岡野光博、メディカルビュー社、アレルギー疾患イラストレイテッド (第2版)、2010、214-219
- ③ 岡野光博、中外医学社、EBM 耳鼻咽喉科・頭頸部外科の治療 (第1版)、2010、20-22
- ④ 岡野光博、医学書院、今日の耳鼻咽喉科頭頸部外科治療指針 (第3版)、2010、520-521
- ⑤ 岡野光博、日経メディカル開発、外来診療ガイドブック、2009、184-189
- ⑥ 岡野光博、日経メディカル開発、ガイド

ライン外来診療2009、2009、364-372

研究者番号：70420487
(H20)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡野 光博 (OKANO MITSUHIRO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准
教授
研究者番号：60304359
(H21～)
富永 進 (TOMINAGA SUSUMU)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師

(2) 研究分担者

岡野 光博 (OKANO MITSUHIRO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准
教授
研究者番号：60304359
(H20)