

平成22年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790798
 研究課題名（和文）皮膚アレルギー炎症における EP3 受容体の作用機構の解明とその創薬への応用
 研究課題名（英文）Prostaglandin E(2)-EP3 signaling suppress skin inflammation in mouse contact hypersensitivity.
 研究代表者
 本田 哲也 (HONDA TETSUYA)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：40452338

研究成果の概要（和文）：生理活性脂質の一種であるプロスタグランジン E2（PGE2）の受容体の一種である EP3 の選択的作動薬の投与は、マウスアレルギー性皮膚炎の発症を有意に抑制することを明らかとした。またその作用点は表皮細胞に存在する EP3 受容体であり、表皮細胞からのケモカイン産生を抑制し、皮膚アレルギー炎症を抑制することを明らかとした。

研究成果の概要（英文）：Prostaglandin E2 is a lipid mediator, and EP3 is one of the receptor of PGE2. Administration of a EP3 selective agonist significantly suppressed mouse contact hypersensitivity response. EP3 signaling inhibited chemokine production from keratinocytes and suppressed inflammatory cell infiltration in contact hypersensitivity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：プロスタグランジンE2 EP3受容体、接触皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

（1）アトピー性皮膚炎を初めとする皮膚アレルギー炎症の治療には、以前としてステロイド剤が中心であり、その副作用の問題から新規薬剤ターゲットが期待されている。

（2）生理活性脂質の一種であるプロスタグランジン E2（PGE2）はその受容体の一つ EP3 を介し、アレルギー喘息に抑制作用を持つことがマウスモデルにて明らかとなっている。

（3）皮膚アレルギー炎症部局所では、多量の PGE2 が産生されていることが知られているが、受容体が複数存在すること、またその半減期が極めて短いため、生理的解析が困難であり、アレルギー炎症での役割は十分にわかっていなかった。

（4）近年 PGE2 受容体が欠損したマウスが作製され、PGE2 の生理的役割の解析が急速に進んできている。

2. 研究の目的

(1) PGE2-EP3 シグナリングを特異的に活性化することで皮膚アレルギー炎症の抑制効果を検討する。

(2) 抑制効果が認められる場合、その作用点、作用メカニズムを明らかとし、新規アレルギー治療薬としての可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1) マウス接触皮膚炎モデルを用いて、EP3 受容体特異的作動薬を投与し、その抗炎症効果を検討した。接触皮膚炎モデルは、0.5%のdinitrofluorobenzene (DNFB) を腹部に塗布して感作し、5日後に耳介皮膚に0.3%のDNFBを塗布(惹起)して、その耳介腫脹反応と組織学的変化にて評価した。

- ① EP3 選択的作動薬として、AE248 を用いた。
- ② AE248 の投与は、惹起時に腹腔からの全身投与及び、耳介皮膚への局所投与を行った。

(2) 皮膚での EP3 受容体の発現を同定するため、免疫組織学的解析を行った。

(3) 薬剤投与による炎症抑制効果の作用点を同定するため、薬剤投与群と非投与群とで炎症部皮膚からRNAを採取し、その遺伝子発現変化を、マイクロアレイを用いて網羅的に検討した。

(4) 表皮細胞を培養し、表皮細胞から放出されるケモカインに対する EP3 作動薬の効果について検討を行った。

(5) EP3 受容体が欠損したマウスを作成し、その接触皮膚炎反応を野生型マウスと比較検討した。

4. 研究成果

(1) EP3 受容体選択的作動薬を投与したグループでは、アレルギー炎症に伴う皮膚の腫脹、炎症細胞浸潤が有意に抑制されることが明らかとなった。

図 1

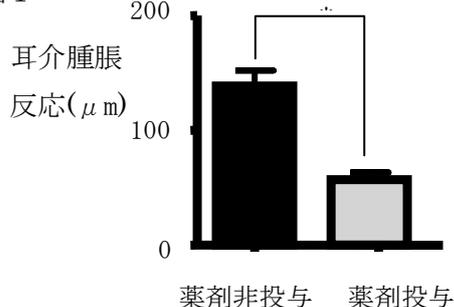
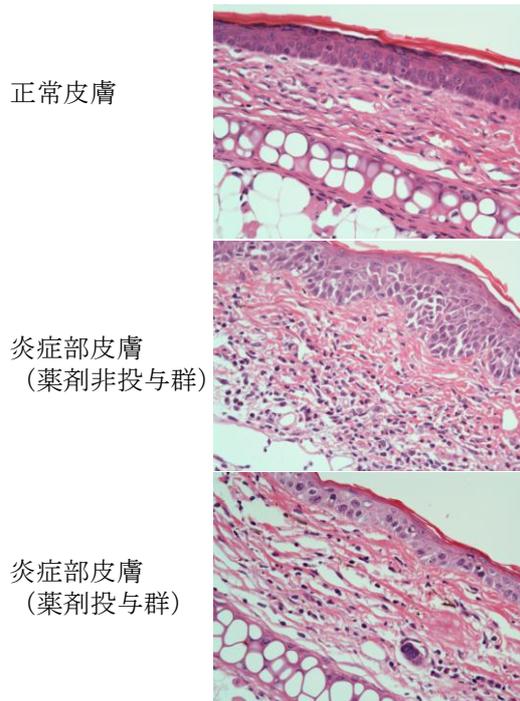


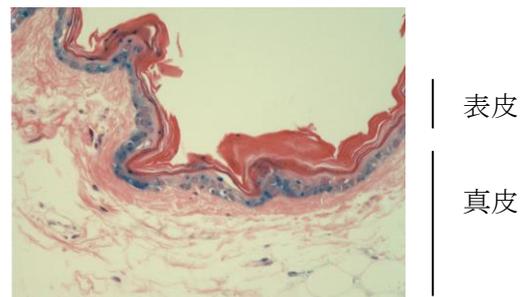
図 2 組織学的解析



(2) EP3 受容体は皮膚では表皮細胞に局限して発現しており、表皮細胞に作用して抗炎症効果を持つことが示唆された。

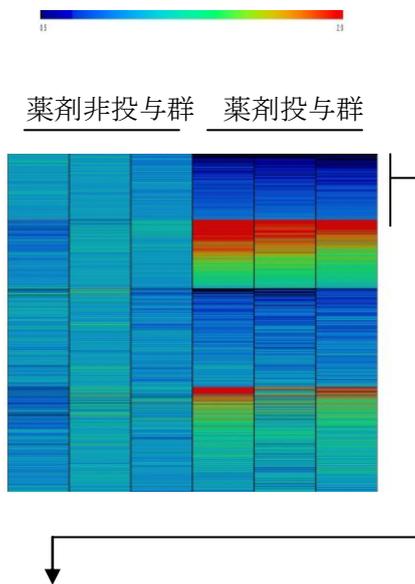
①表皮層に特異的に EP3 作動薬の染色(青色)が認められた。

図 3 免疫組織化学的解析



(3) 炎症部皮膚の網羅的遺伝子発現変化の解析では、表皮細胞から産生されるケモカイン(CXCL1, CXCL2)が、EP3 受容体選択的作動薬投与群において有意に抑制されていることが明らかとなった。

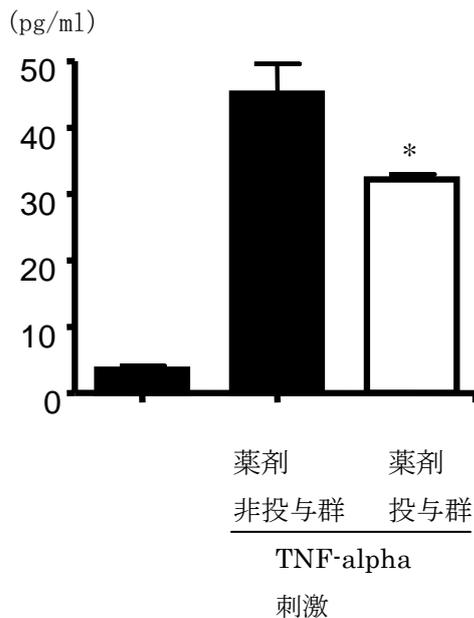
図4 マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析



薬剤投与により発現が抑制された遺伝子群。この中に CXCL1, CXCL2 ケモカインの存在が確認された。

(4) 表皮細胞を使った培養系においても、薬剤投与により上記ケモカイン産生が抑制されることが明らかとなった。

図5 CXCL1 の産生



(5) EP3 受容体を欠損したマウスでは、接触皮膚炎反応が増悪した。また組織学的にも、EP3 受容体欠損マウスでは強い炎症細胞の浸潤を認めた。すなわち、抑制シグナルが入らないことで炎症が増悪したと考えられた。

図6 接触皮膚炎反応の比較

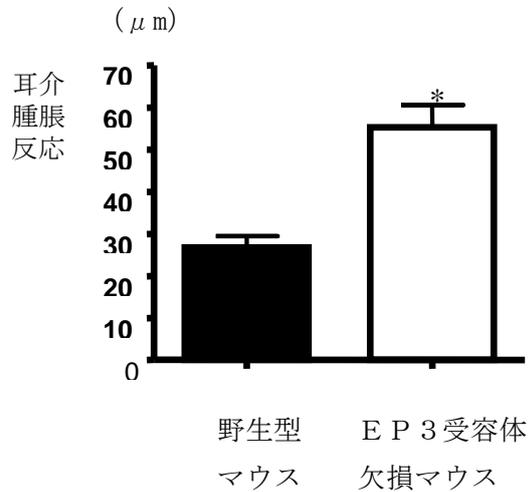
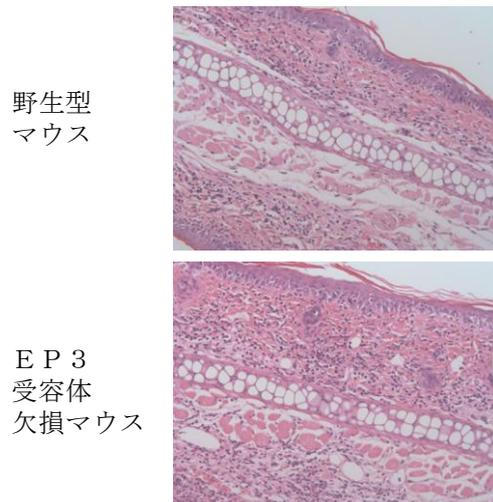


図7 組織学的解析



(6) 以上の結果より、EP3 選択的作動薬は表皮細胞に作用して、表皮細胞からのケモカイン産生を抑制することで、接触皮膚炎反応を抑制することが明らかとなった。

また、EP3 受容体欠損マウスが接触皮膚炎反応が野生型マウスと比べ増悪したことから、内在性に存在する PGE2-EP3 シグナリングは炎症抑制的に作用していることが明らかとなった。このように、EP3 選択的作動薬の投与は、生体が本来持っている炎症抑制性のシグナルを更に増強させるというものである。このような抗アレルギー炎症薬はこれ

までほとんど例がなく、新規薬剤ターゲットとして極めて有望なものである可能性が考えられた。

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 1 件)

Tetsuya Honda, Toshiyuki Matsuoka, Mayumi Ueta, Kenji Kabashima, Yoshiki Miyachi, Shuh Narumiya

Prostaglandin E(2)-EP3 signaling suppress skin inflammation in mouse contact hypersensitivity.

Journal of Allergy and Clinical Immunology, 124, 809-818, 2009 (査読有)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田 哲也 (HONDA TETSUYA)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：40452338