

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790818
 研究課題名 (和文) 神経反発因子 Sema3A を標的としたアトピー性皮膚炎の痒み抑制効果の検討
 研究課題名 (英文) Investigation of antipruritic effects in atopic dermatitis using nerve repulsion factor Sema3A
 研究代表者
 富永 光俊 (TOMINAGA MITSUTOSHI)
 順天堂大学・大学院医学研究科・博士研究員
 研究者番号：50468592

研究成果の概要 (和文)：本研究ではアトピー性皮膚炎 (AD) の新規止痒薬の開発を目指し、AD の動物モデルである NC/Nga マウスを用いて、神経反発因子 semaphorin 3A (Sema3A) の止痒効果を検討した。リコンビナントヒト Sema3A (rhSema3A) を親水性ワセリンと混合し、Sema3A 軟膏を調製した。コントロール軟膏群と比較し、Sema3A 軟膏群では、著明な搔破行動の抑制と皮膚炎の改善が観察された。本研究結果により、AD 治療に対する Sema3A 外用の有効性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：This study was performed to investigate antipruritic effects of semaphorin 3A (Sema3A), which is one of nerve repulsion factors, in atopic dermatitis (AD) using NC/Nga mouse, an AD model. Topical application of recombinant human Sema3A ointment on atopic NC/Nga mice significantly suppressed the scratching behavior and dermatitis compared with those of control mice. Therefore, this finding suggested the therapeutic efficacy of Sema3A ointment in pruritus and dermatitis of AD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
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：痒み、アトピー性皮膚炎、Semaphorin 3A、知覚神経

1. 研究開始当初の背景

近年、アトピー性皮膚炎 (AD)、花粉症、気管支喘息などのアレルギー疾患は世界的に増加傾向にあり、我が国では国民の約 3 割がアレルギー疾患を持つことが疫学調査により判明している。これらアレルギー疾患の中で、AD は増悪、寛解を繰り返す痒みのある湿

疹を主病変とする疾患であり、痒み研究が発展途上である現在において AD の痒み発生機序の解明、および特効薬的治療法の開発は社会的急務である。

AD の痒みは、多くの場合において抗ヒスタミン薬に抵抗性を示す。この原因の 1 つに、起痒刺激 (物理的、化学的刺激) の受け手で

ある知覚神経線維が表皮内へ侵入・伸長し、表皮内神経密度が増加することで痒み閾値が低下することが挙げられる。この表皮内神経密度の増加は、ケラチノサイトから産生される神経伸長因子によって惹起される。従って、これまでのADにおける増悪・慢性化因子の研究は主に神経伸長因子に注目したものでばかりであった。しかし、我々は、ADの難治性痒みの発生機序を神経反発という全く新しい観点から研究する着想に至り、AD表皮でSema3A発現が低下し、これが神経線維の表皮内侵入を促進することを世界で初めて報告した。2008年には、横浜市立大学の研究グループによって、ADを発症したNC/Ngaマウスの皮内にリコンビナントSema3Aを投与すると、搔破行動と皮膚炎が改善することが示された(Yamaguchi et al., J Invest Dermatol, 28: 2842-9, 2008)。

2. 研究の目的

本研究では、当初の研究計画方針を変更し、NC/NgaマウスのAD病変部に、リコンビナントSema3A軟膏を塗布することで、Sema3A外用による止痒効果と皮膚炎改善効果を検討した。さらに、ADの既存治療薬であるステロイド軟膏(リンデロンDP)およびタクロリムス軟膏による止痒・皮膚炎改善効果をSema3A軟膏と比較検討した。

3. 研究の方法

ビオスタAD軟膏によるADモデルマウスの作製

4% SDS溶液でNC/Ngaマウスの皮膚バリアを破壊後、ビオスタAD軟膏(コナヒョウヒダニの虫体成分)をNC/Ngaマウスの背部に週2回100mg/siteで塗布し、この操作を3週間行うことでADモデルマウスを作製した。

Sema3A軟膏の調製

リコンビナントヒトSema3A(rhSema3A)を親水性ワセリンに2.5・g rhSema3A/1g親水性ワセリンの比率で混合し、Sema3A軟膏を調製した。コントロール群には、生理食塩水と親水性ワセリンを混合したコントロール軟膏を使用した。

Sema3A軟膏による止痒効果と皮膚炎改善効果の検討

Sema3A軟膏外用前後で、ビオスタAD-NC/Ngaマウスを以下の項目で評価した。Sema3A軟膏は、1日1回、連日4日間のスケジュールでビオスタAD-NC/Ngaマウスの病変部に塗布し、外用終了3日後から評価を開始した。

a) 皮膚炎の程度、b) 痒みの程度(搔破行動の観察)、c) 組織学的解析(表皮肥厚の程度、好酸球数、マスト細胞数、T細胞数の測定、表皮内神経、血管の分布)。これらの解析は、

コントロール群に対しても同様に行い、Sema3A軟膏群の結果と比較検討した。

既存AD治療法との比較検討

rhSema3A軟膏塗布による新規AD治療の効果と既存治療法であるステロイド、タクロリムス軟膏の治療効果を搔破行動、皮膚炎の程度を指標に比較検討した。ステロイド、タクロリムス軟膏は、1日1回、連日4日間のスケジュールでビオスタAD-NC/Ngaマウスの病変部に塗布し、外用終了3日後から評価を開始した。

4. 研究成果

本研究では、NC/Ngaマウスの背部にビオスタAD軟膏(コナヒョウヒダニ虫体成分)を反復塗布することで、AD様症状を誘発した。

コントロール群と比較し、ビオスタAD群では搔破行動および皮膚炎が認められ、血清中IgEレベル、経皮水分蒸散量の増加も確認された。さらに、ビオスタAD群の病変部では、表皮肥厚、炎症性細胞(好酸球、マスト細胞、CD4陽性T細胞)浸潤増加、NGFの発現増加とSema3Aの発現低下、表皮内神経線維の稠密化、VEGFの発現増加と血管(PECAM-1陽性)の稠密化が観察された。

次に、Sema3A軟膏を調製し、Sema3A軟膏外用前後で、ビオスタAD-NC/Ngaの皮膚炎の程度および搔破行動を評価した。コントロール軟膏(基剤)群と比較し、Sema3A軟膏群では著明に皮膚炎が改善するとともに、搔破行動の抑制が観察された。さらに、コントロール軟膏群と比較し、Sema3A軟膏群では表皮肥厚、炎症性細胞(好酸球、マスト細胞、CD4陽性T細胞)浸潤の抑制、および表皮内神経線維数(PGP9.5陽性、サブスタンスP陽性神経)の減少が観察された。しかし、血管(PECAM-1陽性)の稠密化に対するSema3Aの抑制効果は認められなかった。

加えて、Sema3A軟膏による皮膚炎の改善率および搔破行動の抑制率は、ステロイド軟膏群、タクロリムス軟膏群より高かった。このように、本研究成果は、将来的なADの難治性痒みと炎症の両方を同時に抑制する新規Sema3A外用剤開発の基礎を確立するために大変意義がある。

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10件)

Tominaga M, Takamori K. Recent advances in pathophysiological mechanisms of itch. Expert Rev Dermatol. 2010, in press. 査

読有

Taneda K, Tominaga M, Tengara S, Ogawa H, Takamori K. Neurotrophin inhibits both capsaicin-induced substance P release and nerve growth factor-induced neurite outgrowth in cultured rat dorsal root ganglion neurons. Clin Exp Dermatol. 35: 73-77, 2010 査読有

Tominaga M, Ogawa H, Takamori K. Histological characterization of cutaneous nerve fibers containing gastrin-releasing peptide in atopic dermatitis. J Invest Dermatol. 129: 2901-2905, 2009 査読有

Tominaga M, Kamo A, Tengara S, Ogawa H, Takamori K. *In vitro* model for penetration of sensory nerve fibers on a Matrigel basement membrane: Implications for possible application to intractable pruritus. Br J Dermatol. 161: 1028-1037, 2009 査読有

Tominaga M, Tengara S, Kamo A, Ogawa H, Takamori K. Psoralen-ultraviolet A therapy alters epidermal Sema3A and NGF levels and modulates epidermal innervation in atopic dermatitis. J Dermatol Sci. 55: 40-46, 2009 査読有

Tominaga M, Takamori K. The penetration mechanisms of nerve fibers into the epidermis of atopic dermatitis. J Environ Dermatol Cutan Allergol. Vol. 3 No.2: 70-77. 2009

冨永光俊. オピオイドと痒み. 日本皮膚科学会雑誌. 119 (13), 2502-2505, 2009

冨永光俊、種田研一、高森建二. 表皮内神経と痒み. アレルギーの臨床. Vol. 29, No. 10, 27-32, 2009

Tominaga M, Ogawa H, Takamori K. Decreased production of semaphorin 3A in the lesional skin of atopic dermatitis. Br J Dermatol. 158, 842-844, 2008 査読有

高森建二、種田研一、冨永光俊. アトピー性皮膚炎のバリア機能異常と痒みの関係. アレルギーの臨床. 28, 28-33, 2008

[学会発表] (計 14 件)

冨永光俊. アトピー性皮膚炎の痒みのメカニズム—表皮内神経とオピオイドの観点から—. 第 5 回熊本かゆみ研究会学術講演会, 熊本, 2010 年 3 月

Takamori K, Tominaga M, Taneda K, Negi O: Regulation of itch in atopic dermatitis-Involvement of Sema3A-. 10th International Congress of Dermatology, Czech, May 21, 2009

Tominaga M, Takamori K. Implications for peripheral opioid systems to pruritus. 5th International Workshop for the Study of Itch, Tokyo, Japan October 25-28, 2009

Tengara S, Tominaga M, Takamori K: Epidermal nerve density is modulated by keratinocyte-produced anosmin-1. 5th International Workshop for the Study of Itch, Tokyo, Japan October 25-28, 2009

Taneda K, Tominaga M, Negi O, Kamo A, Tengara S, Ogawa H, Takamori K: Evaluation of epidermal nerve density and opioid receptor levels in psoriatic itch. 5th International Workshop for the Study of Itch, Tokyo, Japan October 25-28, 2009

富永光俊. オピオイドと痒み. 第108回日本皮膚科学会総会, 福岡, 2009年4月

富永光俊, 高森建二. アトピー性皮膚炎マウスにおけるガストリン放出ペプチド含有神経の組織学的特性化. 第19回国際痒みシンポジウム, 大阪, 2009年10月

富永光俊, 高森建二. *In vitro* model for penetration of sensory nerve fibers on a Matrigel basement membrane: Implications for possible application to intractable pruritus. 第34回日本研究皮膚科学会, 福岡, 2009年12月

種田研一, 富永光俊, 根木治, 加茂敦子, Suhandy Tenggara, 高森建二. 乾癬の痒みに関する研究—痒みを伴う乾癬皮膚における表皮内神経線維の関与—. 第64回日本皮膚科学会山梨地方会, 山梨, 2009年12月

Tominaga M, Takamori K: Mechanism of itch in atopic dermatitis—Involvement of opioid systems—. 5th Georg Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis (5th ISAD), Kyoto, Japan, May 11-13 2008

Tominaga M, Takamori K: Involvement of keratinocyte-derived semaphorin 3A in epidermal innervation of atopic dermatitis. 5th International Investigative Dermatology (IID), Kyoto, Japan, May 14-17 2008

種田研一, 富永光俊, 根木治, 須賀康, 高森建二. 乾癬の痒みに関する研究—痒みを伴う乾癬皮膚における表皮内神経線維の関与—. 第23回日本乾癬学会学術大会, 旭川, 2008年9月

種田研一, 富永光俊, 根木治, 須賀康, 高森建二. 表皮内での Sema3A の発現の低下と、表皮内神経伸長を認めたアミロイド苔癬. 第72回日本皮膚科学会東部支部学術大会, 秋田, 2008年9月

種田研一, 富永光俊, 根木治, スハンディ・テングラ, 須賀康, 高森建二. ラット脊髄後根神経節細胞を用いたノイロトロピンの痒み抑制効果の研究. 地方会, 東京, 2008年12月

〔図書〕(計1件)
富永光俊, 高森建二. 『からだと光の辞典』. 朝倉書店, 2010, in press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富永 光俊 (TOMINAGA MITSUTOSHI)
順天堂大学・大学院医学研究科・博士研究員

研究者番号: 50468592

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし