

機関番号：32620

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791099

研究課題名（和文）マスト細胞からの新たな痒み因子 IL-31 の産生とアトピー性皮膚炎搔痒における役割

研究課題名（英文） A role of mast cell-derived IL-31 in pruritus in atopic dermatitis

研究代表者

原 むつ子（HARA MUTSUKO）

順天堂大学・医学(系)研究科・研究員

研究者番号：60420832

研究成果の概要（和文）：

本研究では、マスト細胞が“かゆみ”惹起分子の1つである IL-31 を産生し、アトピー性皮膚炎の“かゆみ”症状の発現に関与するの可否について検証した。

その結果、抗菌ペプチドによる刺激はマスト細胞に IL-31 を誘導すること、かゆみ症状がある皮膚炎の病変部位においてマスト細胞が IL-31 を産生していることを見出した。これらの知見は、マスト細胞由来の IL-31 がかゆみに関与していることを強く示唆した。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we tested our hypothesis that mast cells might produce an pruritic cytokine IL-31 and play a role in pruritus in atopic dermatitis. We found that anti-microbial peptides induced IL-31 production from human mast cells and IL-31 expression was detected in mast cells in skin lesions of a mouse model of atopic dermatitis. Collectively, these results suggest that mast cell-derived IL-31 may play a role in pruritus in atopic dermatitis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010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：分化；内科系臨床医学 細目；皮膚科学

キーワード：IL-31、皮膚炎、マスト細胞

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎は、難治性皮膚疾患の1つであり、その病態の解明ならびに新しい有効な治療法の開発は、現代医学におけるチャレンジの1つである。アトピー性皮膚炎は、強い“かゆみ”を伴うことでも知られ、この

強い“かゆみ”は、患者にとって夜も眠れないなど QOL (quality of life) を著しく阻害し、また病態の悪化因子にもなる重要な症状の1つである。ヒスタミンで生じる“かゆみ”のメカニズムは徐々に解明されつつあるのに対し（J Neurosci. 1997 Oct

15;17(20):8003-8.)、抗ヒスタミン剤が奏功しないアトピー性皮膚炎の“かゆみ”のメカニズムは依然不明であり、根本的な治療法も見出されていない。

近年、皮膚炎の発症、特に“かゆみ”発症に密接に関与する分子として Interleukin-31 が同定された。(Nat Immunol. 2004, 5, 752-60.) Interleukin-31 (IL-31) は IL-6(gp130)ファミリーに属するサイトカインであり、活性化した Th2 細胞が主たる産生細胞であると考えられている。IL-31 トランスジェニックマウスは、重度のかゆみを伴う脱毛を呈し、マスト細胞の増加を伴うアトピー性皮膚炎様の皮膚炎が誘導されることが報告されている (Nat Immunol. 2004, 5, 752-60.) さらに、アトピー性皮膚炎のモデルマウスである NC/Nga マウスでも病変部における IL-31 の発現とかゆみ症状に相関が見られ (Exp Dermatol, 2006, 15, 161-7.)、かゆみを伴うアトピー性皮膚炎の患者の病変部位には IL-31 が過剰発現する (J Allergy Clin Immunol, 2006, 117, 411-7, J Allergy Clin Immunol, 2006, 117, 418-25.)。しかしながら、これら皮膚病変部における IL-31 の発現が“かゆみ”症状の一義的原因であるか否かについては未だ証明されていない。

我々の研究グループでは、マスト細胞の様々な疾患における役割について解析を進めてきた。マスト細胞はアトピー性皮膚炎患者の病変部において増加を示し、“かゆみ”などのアトピー性皮膚炎の病態になんらかの形で関与していることが示唆されている。またマスト細胞は、T 細胞が産生するとされている様々なサイトカインやケモカインを産生することが知られている。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて、本研究の主たる目的は、マスト細胞が“かゆみ”惹起分子の1つである IL-31 を産生し、アトピー性皮膚炎の“かゆみ”症状の発現に直接的に関与するのか、について、インビトロ及びインビボの実験系、及び臨床検体を用いて検証することである。

この目的に照らし、ヒト培養マスト細胞における IL-31 発現及びその制御機構についての解析およびマウス皮膚炎モデルにおけるマスト細胞の IL-31 発現について検討した。

3. 研究の方法

1) ヒトマスト細胞株 LAD2 及びヒト末梢血由来培養マスト細胞を用いて様々な刺激に

よる IL-31 の産生機構について Real-time PCR 法及び ELISA 法を使って検討した。またそれらの刺激が in vivo で IL-31 の発現を誘導するか否かについてラット耳組織を用いて検討した。

2) ハプテン (DNCB) の反復塗布によって皮膚炎を誘発したヌードマウス (マウス皮膚炎モデル) の耳組織において mRNA を回収し、Real-time PCR 法および免疫染色法によって IL-31 の発現について検討した。

4. 研究成果

1) ヒトマスト細胞株 LAD2 及びヒト末梢血由来培養マスト細胞のいずれにおいても、抗菌ペプチドであるヒト β -defensin 及び LL-37 による刺激は、in vitro で有意に IL-31 の産生を増加させることを見出した。またラットでの in vivo での検討においても、これら抗菌ペプチドの投与はラット耳介皮膚に存在するマスト細胞での IL-31 の発現を上昇させた。さらにこの IL-31 産生には MAP キナーゼ経路 (p38, ERK, JNK) の活性化及び G タンパクと PI3K 経路の活性化が必要であることが阻害剤を用いた検討から明らかになった。また β -defensin 及び LL-37 などの抗菌ペプチドが高発現している乾せん患者皮膚病変組織においても IL-31 が高発現していることも見出した。

以上の結果は、ヒト及びラットのマスト細胞において、抗菌ペプチドによる刺激は IL-31 を誘導することを示唆した。この知見は、IL-31 を介した新たなかゆみのメカニズム (抗菌ペプチドによるかゆみの誘導) を示すものである。

2) ハプテン (DNCB) の反復塗布によって皮膚炎を誘発したヌードマウスの耳組織において IL-31 mRNA 発現が上昇することを見出した。また実際に皮膚炎発症部位においてマスト細胞がタンパク質レベルで IL-31 を産生していること、正常部では IL-31 の発現が見られないことを免疫組織染色法にて確認した。

さらに、マウスマスト細胞に特異的なプロモーター領域が既に同定されていることから (J Immunol 170:334, 2004)、このプロモーター配列を IL-31 遺伝子につないだトランスジェーンを作成した。今後、このトランスジェーンを用いてトランスジェニックマウスを作製し、その搔爬行動を観察することによってマスト細胞由来の IL-31 の発現と“かゆみ”との関連について検討する予定である。

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)

1. Nakamura Y, Harama D, Shimokawa N, Hara M, Suzuki R, Tahara Y, Ishimaru K, Katoh R, Okumura K, Ogawa H, Shibata S, Nakao A. Circadian clock gene Period2 regulates a time-of-day-dependent variation in cutaneous anaphylactic reaction. *J Allergy Clin Immunol*. 査読有 2011 Apr;127(4):1038-1045.e3.
2. Kanada S, Nishiyama C, Nakano N, Suzuki R, Maeda K, Hara M, Kitamura N, Ogawa H, Okumura K. Critical role of transcription factor PU.1 in the expression of CD80 and CD86 on dendritic cells. *blood* 査読有 2011 Feb 17;117(7):2211-22
3. Nishida C, Nishiyama C, Satoh K, Hara M, Itoh Y, Ogawa H, Okumura K. Establishment of a simple detection system for blood group ABO-specific transferase activity in DNA-transfected cells. *Leg Med (Tokyo)*. 査読有 2010 Jul;12(4):172-6.
4. Shimokawa N, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Suzuki R, Hara M, Fukai T, Tokura T, Miyajima H, Nakao A, Ogawa H, Okumura K. Suppressive effects of transcription factor GATA-1 on cell type-specific gene expression in dendritic cells. 査読有. 2010 Jul;62(7):421-9.
5. Wang QH, Nishiyama C, Nakano N, Kanada S, Hara M, Kitamura N, Shimokawa N, Lu CL, Ogawa H, Okumura K. Opposite effects of Trichostatin A on activation of mast cells by different stimulants. *FEBS Lett*. 査読有 2010 Jun 3;584(11):2315-20.
6. Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, Kajiwara N, Saito H, Nagaoka I, Ogawa H, Okumura K. Antimicrobial peptides human beta-defensins and cathelicidin LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J Immunol* 査読有 2010 Apr 1;184(7):3526-34.
7. Potaczek DP, Maeda K, Wang QH, Nakano N, Kanada S, Stepien E, Branicka A, Fukai T, Hara M, Tokura T, Ogawa H, Undas A, Okumura K, Nishiyama C. FcεRIα gene -18483A>C polymorphism affects transcriptional activity through YY1 binding. *Immunogenetics*. 査読有

2009 Sep;61(9):649-55.

8. Fukai T, Nishiyama C, Kanada S, Nakano N, Hara M, Tokura T, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Involvement of PU.1 in the transcriptional regulation of TNF-α. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 2009 Oct 9;388(1):102-6.
9. Ito T, Nishiyama C, Nakano N, Nishiyama M, Usui Y, Takeda K, Kanada S, Fukuyama K, Akiba H, Tokura T, Hara M, Tsuboi R, Ogawa H, Okumura K. Roles of PU.1 in monocyte- and mast cell-specific gene regulation: PU.1 transactivates CIITA pIV in cooperation with IFN-γ. *Int Immunol*. 査読有 2009 Jul;21(7):803-16.
10. Kinoshita H, Takai T, Le TA, Kamijo S, Wang XL, Ushio H, Hara M, Kawasaki J, Vu AT, Ogawa T, Gunawan H, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. Cytokine milieu modulates release of thymic stromal lymphopoietin from human keratinocytes stimulated with double-stranded RNA. *J Allergy Clin Immunol*. 査読有 2009 Jan;123(1):179-86.

〔学会発表〕 (計 5 件)

1. 西山千春、他、転写調節因子 PU.1 による樹状細胞遺伝子発現制御機構解析と自己免疫疾患治療応用、日本農芸化学会 2011 年度大会、2011 年 3 月
2. 鈴木竜洋、他、小児アレルギー疾患における末梢血好塩基球および樹状細胞の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) 発現の検討、日本小児アレルギー学会、2010 年 12 月 4 日、横浜 (パシフィコ横浜 会議センター)
3. 上條清嗣、他、アレルギー性気道炎症モデルにおけるアレルギーへの自然免疫細胞応答の関与、第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 25 日、東京 (東京国際フォーラム)
4. 鈴木竜洋、他、小児アレルギー疾患における末梢血好塩基球および樹状細胞の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) 発現の検討、第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 25 日、東京 (東京国際フォーラム)
5. S.Kamijo、他、involvement of innate immune cell response to allergens in the pathogenesis of allergic airway inflammation、第 14 回国際免疫学会、2010 年 8 月 27 日、神戸 (神戸ポート

ピアホテル)

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/atopy_center/index.html

<http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/index.html>

http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/kyodo_kenkyu_kensyu/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原 むつ子 (HARA MUTSUKO)

順天堂大学 医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：60420832

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし