

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890054

研究課題名（和文） 痒疹の病態解明と新規治療法の開発

研究課題名（英文） Research into the pathophysiology and new therapy of prurigo

研究代表者

宇賀神 つかさ (UGAJIN TSUKASA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・メディカルフェロー

研究者番号：40581327

研究成果の概要（和文）：痒疹マウスモデルにおいて、好塩基球は病態への関与が考えられている。マウス好塩基球は、亜鉛関連分子Xにより制御される細胞内亜鉛シグナルにより、シグナルパスウェイAの活性化を介し、メディエーター産生を制御している。ヒト好塩基球において、亜鉛関連分子Xとメディエーターの発現は、高度の正の相関関係にあり、マウスだけでなく、ヒト好塩基球においても同様の機序でメディエーター産生が制御されている可能性が考えられた。これらの結果は、亜鉛関連分子Xを介した好塩基球の活性化が、痒疹の病態に関与している可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：Basophil play a pivotal role in the pathophysiology of mouse model for prurigo. Zinc-mediated molecule X regulates mediator release from mouse basophil via activation of signaling pathway A. In human basophil, the expression of Zinc-mediated molecule X is strongly, positively correlated with its mediator, indicating that Zinc-mediated molecule X regulates mediator release from basophil not only in mouse but also in human. These data suggest that basophil, activated by Zinc-mediated molecule X, involved in the pathophysiology of prurigo.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1230000	369000	1599000
2011年度	1130000	339000	1469000
年度			
年度			
年度			
総計	2360000	708000	3068000

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：アトピー性皮膚炎、痒疹、好塩基球

## 1. 研究開始当初の背景

(1)痒疹は、基礎疾患を持つ中高年患者に好発する難治性の皮膚疾患であるが、これまでにその病態は明らかになっていない。近年、抗原特異的IgEで感作したマウスの耳介皮内に抗原を投与すると即時型・遅発型に続き、好塩基球をイニシエーターとする第3相反応が

見られることが報告されたが、この反応は痒疹に酷似する。私たちはこれを痒疹のモデルマウスとして解析を行ってきた。これまでに、マウス好塩基球モノクローナル抗体を樹立し、痒疹様所見を示す第3相反応において、多数の好塩基球が浸潤することを明らかとした (Ugajin T et al, J Leukocyte

Biology:2009)。さらに我々の研究室では、実際の痒疹患者の病変部においても多数の好塩基球が浸潤することを明らかにしてきた。(2)近年、肥満細胞の活性化に細胞内亜鉛シグナルが重要な役割を果たすこと、さらに肥満細胞内の亜鉛シグナルを制御する亜鉛トランスポーター(ZnT5)欠損マウスでは肥満細胞由来のサイトカイン産生が抑制され、肥満細胞依存性の遅発型皮膚炎症である接触過敏性反応が抑制されることも報告されている(Nishida et al, JEM:2009)。我々はこれまでに、亜鉛キレーターを用いた解析により、好塩基球の活性化にも細胞内亜鉛シグナルが重要であることを明らかとしてきた。

## 2. 研究の目的

### (1)好塩基球の IgE 依存性の活性化における亜鉛トランスポーターの役割

そこで我々は、好塩基球の IgE 依存性の活性化やメディエーター産生における細胞内亜鉛シグナルがいずれの亜鉛トランスポーターにより、またどのような分子メカニズムにより、制御されているのかを解明する。

### (2)好塩基球による痒疹の発症機序の解明と痒疹の新規治療法の解明

さらに好塩基球細胞内亜鉛シグナルに関与する亜鉛トランスポーターが、実際に痒疹反応形成に関与するかどうかを明らかとし、最終的にはそれを標的とした、痒疹の新規治療法の開発を目指したい。

## 3. 研究の方法

### (1)好塩基球の IgE 依存性の活性化における亜鉛トランスポーターの役割

まず、IgE シグナル依存性の好塩基球の活性化とメディエーター産生の検討を行う。また、好塩基球における亜鉛トランスポーターの発現を、マイクロアレイと Real Time PCR を用いて検討する。さらに好塩基球に発現する亜鉛トランスポーターの欠損マウス由来の好塩基球を用いて、好塩基球の活性化やメディエーター産生を制御する亜鉛トランスポーターを同定する。さらにシグナル分子の阻害剤や遺伝子ノックダウンにより、好塩基球の活性化を司るシグナル伝達経路を同定し、亜鉛シグナルによる好塩基球活性化の分子機構を生化学的手法により解明する。

### (2)好塩基球による痒疹の発症機序の解明と痒疹新規治療法の可能性

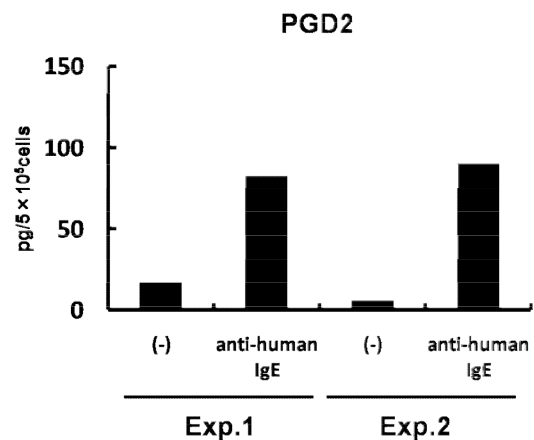
亜鉛トランスポーター欠損マウスを用い、痒疹モデルマウスの検討を行い、亜鉛トランスポーターにより制御される亜鉛シグナルの痒疹発症への関与を検討する。また、好塩基球における亜鉛シグナルの重要性を検討するために、骨髄好塩基球のキメラマウスによる検討を行う。さらには、実際のアトピー性皮膚炎や痒疹患者由来の好塩基球を分離し、

アトピー性皮膚炎や痒疹における亜鉛トランスポーターによる好塩基球の活性化を検討し、疾患との関与について明らかにしていく。

## 4. 研究成果

### (1)好塩基球の IgE 依存性の活性化における亜鉛トランスポーターの役割

好塩基球の IgE シグナル依存性のメディエーター産生能であるが、ヒスタミンや IL-4 を産生することはよく知られるが、他のメディエーターについては不明な点も多かった。私たちの検討の結果、好塩基球は IgE 依存性刺激により、プロスタグランディンを産生することを明らかとし、Amrican Journal of Pathology へ論文報告した(図 1)。



(図 1) 好塩基球は IgE シグナル依存性に PGD2 を産生する。

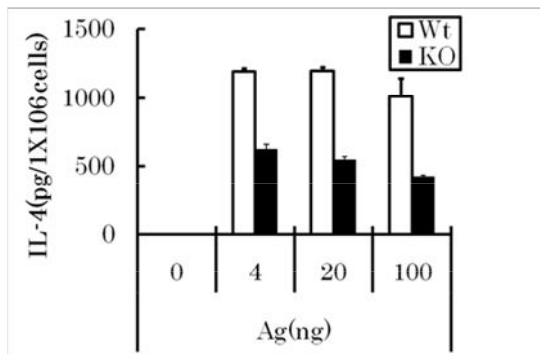
培養好塩基球やプライマリーな好塩基球を用い、microarray や Real Time PCR により、亜鉛トランスポーターの発現を検討したところ、ZnT1,2,5,6,7,Zip6,10,13,14 に加え、メタロチオネイン 1,2 などの亜鉛関連分子が発現し、その一部は好塩基球の IgE シグナル依存性に、発現が誘導されることが明らかとなった。

亜鉛関連分子 X 欠損マウス由来の好塩基球において IgE シグナル依存性のメディエーター産生が減弱することがわかり、好塩基球活性化に関与する亜鉛シグナルは、亜鉛関連分子 X により主に制御されていることがわかった (図 2)。

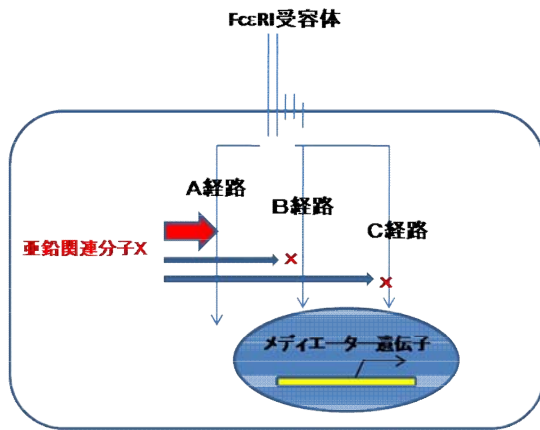
好塩基球活性化に関与するシグナル伝達については不明な点が多いが、種々のシグナル分子の阻害剤や遺伝子ノックダウンの検討の結果、IgE シグナル依存性の好塩基球の活性化には、シグナル伝達経路 A-C の 3 経路が関与することがわかった。

さらに亜鉛関連分子 X 欠損マウス由来好塩基球において、シグナル伝達経路 A-C に関与する種々のシグナル分子のリン酸化や転写因

子の核移行を生化学的に評価したところ、亜鉛関連分子 X は主に、シグナル伝達経路 A を制御することで、メディエーター産生を制御していることを明らかとした (図 3)。



(図 2) 亜鉛関連分子 X 欠損好塩基球はサイトカイン産生の減弱を認める。



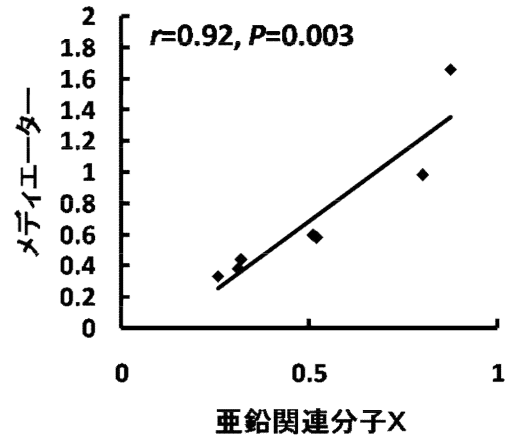
(図 3) 好塩基球における IgE シグナル伝達経路 A-C  
亜鉛関連分子 X は経路 A を制御することで好塩基球のメディエーター産生を制御している

## (2)好塩基球による痒疹の発症機序の解明と痒疹新規治療法の可能性

現在は、亜鉛関連分子 X 欠損マウスを用い、痒疹モデルマウスの検討をおこなっている。未だ症例数の蓄積中である。東京医科歯科大学倫理委員会の承諾のもと、アトピー性皮膚炎や痒疹の患者および健常人由来の好塩基球を分離し、亜鉛関連分子 X やメディエーターの発現を検討したところ、亜鉛関連分子 X と一部のメディエーターは高度の有意水準を伴う高い正の相関を示すことが分かった (図 4)。このことは、マウスだけでなく、ヒトの好塩基球についても、亜鉛関連分子 X が活性化やメディエーターを制御していることを示唆するデータであると考えられる。

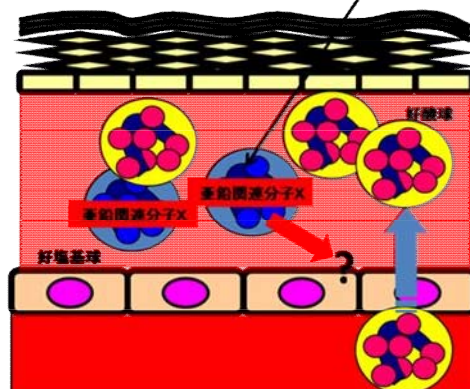
今後はさらに症例を蓄積し、健常人と患者での発現を比較し、亜鉛関連分子 X の疾患への

関与を検討していきたい。最終的には亜鉛関連分子 X を標的とした、痒疹の新規治療法の樹立を目指したい (図 5)。



(図 4) ヒト好塩基球において、亜鉛関連分子 X とメディエーターの発現は高い正の相

## 亜鉛関連分子 X 阻害剤によるアトピー性皮膚炎治療は可能か？



関を示す。

(図 5) 亜鉛関連分子 X 阻害剤による痒疹・アトピー性皮膚炎の治療は可能か？

## 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)

- ① Ugajin T, Satoh T, Kanamori T, Aritake K, Urade Y, Yokozeki H; FcεR signals, but not FcγR signals induce prostaglandin D2 and E2 production from basophils. American Journal of Pathology、査読有り、179:775-82, 2011 [学会発表] (計 3 件)

- ① 宇賀神つかさ他、Prostaglandin D2 and E2 production from murine

basophils、第14回国際免疫学会、  
2010年8月24日、兵庫県

② 宇賀神つかさ他、マウス好塩基球に  
おけるプロスタグランディン産生性  
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、  
東京都

③ 宇賀神つかさ他、IgE-mediated  
production of prostaglandin D2 and  
E2 from basophils、第35回日本研  
究皮膚科学会、2010年12月3日、  
和歌山県

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況(計◇件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宇賀神 つかさ (UGAJIN TSUKASA)

東京医科歯科大学・皮膚科学分野・メディ  
カルフェロー

研究者番号：40581327

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：