

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860938

研究課題名(和文)花粉誘導眼瞼周囲皮膚炎に対するMIFの病因的役割の解明

研究課題名(英文) Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in pollen-induced allergic conjunctivitis and pollen dermatitis in mice

研究代表者

吉久 陽子 (Yoshihisa, Yoko)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・特命助教

研究者番号：70623578

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：花粉刺激は、MIF Tgマウスにおいて結膜と眼窩周囲皮膚への好酸球浸潤を亢進し、Th2型サイトカインの発現を顕著に増加した。マウス皮膚線維芽細胞へのMIFの添加は、eotaxinの発現上昇を誘導した。さらに、MIFとIL-4またはMIFとIL-13の共刺激は、線維芽細胞からのeotaxin発現を相加的に亢進した。このとき、CD74siRNA導入を行うとMIFによるeotaxin発現誘導およびMIFとIL-4またはIL-13の共刺激によるeotaxin発現誘導が減少したことから、線維芽細胞上のCD74細胞膜受容体を介する経路が関与すると示唆された。

研究成果の概要(英文)：MIF knockout (KO), MIF transgenic (Tg) and WT littermate mice were immunized with ragweed (RW) pollen or Japanese cedar (JC) pollen and challenged via eye drops. We observed that the numbers of conjunctiva- and eyelid-infiltrating eosinophils were significantly increased in RW and JC pollen-sensitized MIF Tg compared with WT mice or MIF KO mice. The mRNA expression levels of eotaxin, interleukin (IL)-5 and IL-13 were increased in pollen-sensitized eyelid skin sites of MIF Tg mice. An in vitro analysis revealed that high eotaxin expression was induced in dermal fibroblasts by MIF combined with stimulation of IL-4 or IL-13. This eotaxin expression was inhibited by the treatment with CD74 siRNA in fibroblasts. These findings indicate that MIF can induce eosinophil accumulation in the conjunctiva and eyelid dermis exposed to pollen. Therefore, targeted inhibition of MIF might result as a new option to control pollen-induced allergic conjunctivitis and pollen dermatitis.

研究分野：皮膚科学

キーワード：MIF eotaxin 好酸球

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎は、皮膚のバリア機能低下による易刺激性とアレルギー炎症を起こしやすいアトピー素因に加えて、様々な悪化因子が重なり慢性に湿疹を繰り返す疾患で、乳幼児のみならず成人の治療に難渋する症例が増加していることから社会的に注目されている皮膚疾患の一つである。アトピー性皮膚炎の皮疹の発症に関する病態は、複雑なサイトカインネットワークによって形成されている。現在、アトピー性皮膚炎の発症機序・病変形成に関しては、初期にアレルギー特異的 Th2 型細胞が誘導され、IL-4 や IL-5 を産生し、Th2 型サイトカインによって誘導された好酸球、マクロファージが IL-12 を産生し、Th1 型細胞の誘導に関与、その後 IFN- γ を産生する Th1 型細胞によってアトピー性皮膚炎の慢性病変が形成されると考えられているが、まだ不明な点が多い (Grewe et al. Immunol Today. 1998)。

花粉症は花粉飛散時期に一致して鼻汁、くしゃみ、鼻閉等の鼻炎症状や眼の痒み、結膜充血等の結膜炎症状を特徴とする疾患で、患者数の増加が指摘されて久しい。季節性アレルギー性結膜炎は花粉の飛散時期に症状が出現し、飛散量の増加とともに症状が悪化するのに対し、アトピー性角結膜炎はアトピー性皮膚炎やアトピー性眼瞼炎に合併して起こる慢性の角結膜炎で、顔面を中心に皮膚炎の増悪化が起こり、主に思春期以降のアトピー性皮膚炎患者に多く認められる。また、患者の中には上記の花粉症症状に伴い喉の痛みや痒み、咳、口の渇き、頭痛、耳閉感等を訴える例もあり、特に皮膚の痒みを訴える場合は花粉皮膚炎と呼ばれ、眼瞼周囲や頬等の露出部に皮膚炎症状を認める。

マクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor: MIF) は、アレルギー炎症や免疫応答など、多彩な生物学的作用を有するサイトカインであり、多くの生理反応あるいは病態に密接に関与する重要な因子である。我々はこれまでに、ovalbumin 経皮刺激誘導によるアトピー性皮膚炎モデルマウスを MIF 過剰発現 (Tg) および MIF ノックアウト (KO) マウスに適用してアトピー性皮膚炎の病態における MIF の役割を調べ、MIF が皮膚への好酸球浸潤において重要な役割を担っていること、その機序のひとつとして皮膚線維芽細胞からの eotaxin 発現に関与していることを報告してきた (Yoshihisa et al. J Invest Dermatol. 2011)。

2. 研究の目的

本研究では、ブタクサおよびニホンスギ花粉によるアレルギー性結膜炎およびアトピー性結膜炎に関する情報を基に、花粉誘導の皮膚炎と特異的アレルギー性結膜炎に伴う眼瞼周囲炎の発症機序への MIF の関与を調べることを目的とする。さらに、将来的には

花粉症に伴うアレルギー性皮膚炎等の積極的な予防および治療により花粉飛散時期の生活の質を高めることを目標とする。

3. 研究の方法

MIF 過剰発現 (Tg)、MIF 欠損 (KO) および野生型 (WT) マウスに、ブタクサおよびスギ花粉特異的アレルギー性結膜炎と眼窩周囲皮膚炎を誘発させ、発症モデルマウスを作製した。各モデルマウスより眼球および結膜を含む眼窩周囲組織を採取し、結膜と皮膚組織への好酸球およびマスト細胞浸潤を組織学的に、各種炎症性サイトカイン (MIF, eotaxin, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ) の発現量を定量的に解析した。さらに、WT マウスの皮膚由来の線維芽細胞を培養し、recombinant MIF, IL-4 および IL-13 添加や CD74 (MIF 受容体) siRNA 導入による MIF の作用機序について解析した。

4. 研究成果

MIF Tg マウスにおいて、花粉刺激は結膜および眼窩周囲皮膚への好酸球浸潤を亢進した。また、ブタクサ花粉刺激による MIF, eotaxin, IL-4, IL-5, IL-13 の発現は、WT に比べて MIF Tg マウスで顕著に増加した。一方、IFN- γ の発現は、すべてのマウスにおいて変化を認めなかった。また、マウス皮膚線維芽細胞への MIF の添加は、eotaxin の発現上昇を誘導した。さらに、MIF と IL-4 または MIF と IL-13 の共刺激は、線維芽細胞からの eotaxin 発現を相加的に亢進した。このとき CD74siRNA 導入を行うと、MIF による eotaxin 発現誘導および MIF と IL-4 または IL-13 の共刺激による eotaxin 発現誘導は減少した。

以上の結果から、MIF の全身性の過剰発現は、花粉皮膚炎において局所的に Th2 型サイトカインの発現を高め、炎症部位への好酸球浸潤を促進することがわかった。また、MIF は IL-4 または IL-13 と共に線維芽細胞に作用し、eotaxin の発現と産生を誘導すると考えられ、これには線維芽細胞上の CD74 細胞膜受容体を介する経路が関与することが示唆された。

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9件)

Yoshihisa Y, Norisugi O, Matsunaga K, Nishihira J, Shimizu T. Involvement of MIF in basement membrane damage in chronically UVB-exposed skin in mice. PLoS One 9:e89569, 2014.

Inoue R, Yoshihisa Y, Tojo Y, Okamura C, Yoshida Y, Kishimoto J, Luan X, Watanabe M, Mizuguchi M, Nabeshima Y, Hamase K, Matsunaga K, Shimizu T, Mori H.

Localization of serine racemase and its role in the skin. *J Invest Dermatol* 134: 1618-1626, 2014

Yoshihisa Y, Rheman UM, Shimizu T. Astaxanthin, a xanthophyll carotenoid, inhibits ultraviolet-induced apoptosis in keratinocytes. *Exp Dermatol* 23:178-183, 2014.

Norisugi O, Yoshihisa Y, Shimizu K, Shimizu T. In vitro cytokine expression by PBMCs in herbal drug-induced skin eruption. *Acta Derma Venereol* 94:58-62, 2014.

Jawaid P, Rehman UM, Yoshihisa Y, Li P, Zhao QL, Hassan MA, Miyamoto Y, Shimizu T, Kondo T. Effects of SOD/catalase mimetic platinum nanoparticles on radiation-induced apoptosis in human lymphoma U937 cells. *Apoptosis* 19:1006-1016, 2014.

Rehman MU, Jawaid P, Yoshihisa Y, Li P, Zhao QL, Narita K, Katoh T, Kondo T, Shimizu T. Spiruchostatin A and B, novel histone deacetylase inhibitors, induce apoptosis through reactive oxygen species-mitochondria pathway in human lymphoma U937 cells. *Chemico-Biological Interactions* 221:24-34, 2014.

Yasuda C, Enomoto E, Ishiwatari S, Mori N, Kagoyama K, Matsunaga K, Yoshihisa Y, Matsukuma S, Shimizu T. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the stratum corneum: A marker of the local severity of atopic dermatitis. *Exp Dermatol* 23:764-766, 2014.

吉久陽子, 竹上與志昌, 近藤 隆, 清水忠道. 皮膚表皮細胞においてHSP70がUVB誘導アポトーシスに及ぼす影響. 加齢皮膚医学セミナー 9:33-36, 2014.

Yamakoshi T, Makino T, Ur Rheman M, Yoshihisa Y, Sugimori M, Shimizu T.: Trichohyalin-like 1 protein, a member of fused S100 proteins, is expressed in normal and pathologic human skin. *Biochem Biophys Res Commun.*, 432: 66-72, 2013.

[学会発表](計 18 件)

Rehman MU, Jawaid P, Yoshihisa Y, Li P, Zhao QL, Saijo K, Katoh T, Shimizu T, Kondo. Spiruchostatin A and B induced apoptosis via reactive oxygen species dependent pathway in human lymphoma U937. 17th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research International (SFRR) March 23-26, Kyoto

Jawaid P, Rehman MU, Yoshihisa Y, Li P, Zhao QL, Miyamoto Y, Shimizu T, Kondo T. Effects of SOD/catalase mimic platinum

nanoparticles on radiation-induced apoptosis in human lymphoma U937 cells. 17th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research International (SFRR) March 23-26, Kyoto

Nagata Y, Yoshihisa Y, Matsunaga K, Kitaichi N, Shimizu T. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in pollen-induced allergic conjunctivitis and pollen dermatitis in mice. The 73rd Annual Meeting Society for Investigative Dermatology May 7-10, Albuquerque, New Mexico

Yoshihisa Y, Andoh T, Matsunaga K, Shimizu T. Efficacy of the astaxanthin for the treatment in a murine model of atopic dermatitis. The 44th Annual Meeting European Society for Dermatological Research Meeting September 11-14 Copenhagen, Denmark

Yasuda C, Enomoto A, Ishiwatari S, Mori N, Matsunaga K, Yoshihisa Y, Matsukuma S, Shimizu T. Macrophage migration inhibitory factor in the stratum corneum: A marker of the local severity of atopic dermatitis. The 44th Annual Meeting European Society for Dermatological Research Meeting September 11-14 Copenhagen, Denmark

Shimizu K, Andoh T, Yoshihisa Y, Shimizu T. The histamine released from epidermal keratinocytes is involved in the -melanocyte-stimulating hormone-induced itch-associated response in mice. The 44th Annual Meeting European Society for Dermatological Research Meeting September 11-14 Copenhagen, Denmark

Yoshihisa Y, Andoh T, Matsunaga K, Shimizu T. Therapeutic effect of astaxanthin on atopy-like dermatitis in Nc/Nga mice. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, December 12-14 Osaka, Japan

Yasuda C, Enomoto A, Ishiwatari S, Mori N, Matsunaga K, Yoshihisa Y, Matsukuma S, Shimizu T. Macrophage migration inhibitory factor is increased in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, December 12-14 Osaka, Japan

Shimizu K, Andoh T, Yoshihisa Y, Shimizu T. The histamine released from epidermal keratinocytes is involved in -melanocyte-stimulating hormone-induced itching in mice. The 39th Annual Meeting of the Japanese

Society for Investigative Dermatology, December 12-14 Osaka, Japan
吉久陽子, 長田夕佳, 北市伸義, 清水忠道, 花粉誘導眼窩周囲皮膚炎に及ぼすマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の影響. 第79回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 6月19-20日 札幌
Norisugi O, Yoshihisa Y, Shimizu K, Shimizu T. In vitro cytokine expression by PBMCs in the diagnosis of herbal drug-induced skin eruption. The 6th International Investigative Dermatology Meeting in 2013 ; 2013 May 8 - 11 ; Edinburgh, Scotland.
Yoshihisa Y, Shimizu T. Astaxanthin, a xanthophyll carotenoid, inhibits ultraviolet-induced apoptosis in keratinocytes. The 6th International Investigative Dermatology Meeting in 2013 ; 2013 May 8 - 11 ; Edinburgh, Scotland.
Yasuda C, Enomoto A, Takahashi M, Tohgaki T, Ishiwatari S, Yoshihisa Y, Shimizu T, Matsukuma S. MIF in the stratum corneum as a biomarker of skin irritation. The 6th International Investigative Dermatology Meeting in 2013 ; 2013 May 8 - 11 ; Edinburgh, Scotland.
Yoshihisa Y, Norisugi O, Matsunaga K, Nishihira J, Shimizu T. Involvement of MIF in basement membrane damage in chronically UVB-exposed skin in mice. Joint Meeting, The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology ; 2013 May 20-21 ; Tokyo.
乗杉 理, 北原英幸, 上田智恵子, 清水教子, 三澤 恵, 吉久陽子, 野上達也, 嶋田豊, 清水忠道. 末梢血単核球サイトカイン mRNA 発現定量法を用い診断した桂枝茯苓丸による薬疹の一例. 第64回日本東洋医学会 ; 2013 May 31-Jun 2 ; 鹿児島.
吉久陽子, 竹上與志昌, 近藤 隆, 清水忠道. 皮膚表皮細胞において HSP70 が UVB 誘導アポトーシスに及ぼす影響. 第9回加齢皮膚医学研究会 ; 2013 Jul 6-7 ; 宇部.
長田夕佳, 吉久陽子, 清水忠道. 花粉誘導眼窩周囲皮膚炎に対するマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の役割. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 ; 2013 Nov 28-30 ; 東京.
乗杉 理, 北原英幸, 上田智恵子, 清水教子, 三澤 恵, 吉久陽子, 野上達也, 嶋田 豊, 清水忠道. 末梢血単核球サイトカイン mRNA 発現を用いて診断した桂枝茯苓丸料で生じた薬疹. 第43回日本皮膚ア

レルギー・接触皮膚炎学会 ; 2013 Nov 29-Dec 1 ; 金沢 .

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 :
出願年月日 :
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

吉久 陽子 (YOSHIHISA, Yoko)
富山大学大学院医学薬学研究部 (医学)・
特命助教
研究者番号 : 25860938

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :