

機関番号：42722

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19591194

研究課題名（和文） ヒスタミン第4受容体のアレルギー疾患における作用

研究課題名（英文） Effect of Histamine H4 receptor on allergic diseases

研究代表者

清家 正博 (SEIKE MASAHIRO)

相模女子大学短期大学部・食物栄養学科・教授

研究者番号：50346714

研究成果の概要（和文）：ヒスタミン欠如マウスには H4 受容体作動剤を野生型マウスには H4 受容体拮抗剤を投与しつつ、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させた。ヒスタミン欠如マウスに H4 受容体作動剤を投与すると、好酸球と肥満細胞が多数浸潤し、IL-4、5、6 の産生を増加させ、皮膚病理組織を増悪させた。一方、野生型マウスでは H4 受容体拮抗剤の投与により、好酸球と肥満細胞数が減少し、IL-4、5、6 の産生は低下し、皮膚病理組織が改善した。これらの知見は、アトピー性皮膚炎や慢性アレルギー性皮膚炎において、H4 受容体拮抗剤の投与が有効である可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：**Background:** The present study observed effects of the histamine H<sub>4</sub> receptor on chronic allergic contact dermatitis induced by repeated challenge in mice.

**Methods:** Acute contact dermatitis was induced by single epicutaneous challenge of 2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene (TNCB) to the ear. Chronic allergic contact dermatitis was developed by repeated epicutaneous challenge using TNCB on the dorsal back skin. H<sub>4</sub> receptor antagonist JNJ777120 was administered to wild-type mice, while H<sub>4</sub> receptor agonist 4-methylhistamine was administered to histidine decarboxylase (HDC) (-/-) mice that synthesized no histamine.

**Results:** HDC (-/-) mice did not differ phenotypically from HDC (+/+) mice and H<sub>4</sub> receptor antagonist/agonist did not have clinical effects in terms of acute contact dermatitis reactions. H<sub>4</sub> receptor antagonist ameliorated skin eczematous lesions induced by repeated TNCB challenge in HDC (+/+) mice. On the contrary, H<sub>4</sub> receptor agonist exacerbated skin lesions exclusively in HDC (-/-) mice. Application of H<sub>4</sub> receptor agonist induced migration of mast cells and eosinophils in skin lesions and H<sub>4</sub> receptor antagonist suppressed these changes. H<sub>4</sub> receptor was immunohistochemically detected on mast cells in eczematous lesions. Levels of interleukin (IL)-4, -5, and -6 in lesions were decreased, whereas levels of interferon- $\gamma$  and IL-12 were increased by H<sub>4</sub> receptor antagonistic activity. Serum Immunoglobulin E levels rapidly increased with repeated challenge, but decreased with H<sub>4</sub> receptor antagonist.

**Conclusion:** Since chronic allergic contact dermatitis is developed by H<sub>4</sub> receptor stimulation, H<sub>4</sub> receptor antagonists might represent new candidate drugs for treating chronic allergic contact dermatitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：ヒスタミン、知覚神経、皮膚炎、H4 受容体

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒスタミン H4 受容体は白血球や肥満細胞に発現している。ヒスタミンは H4 受容体を介して好酸球や肥満細胞を遊走させる。さらに、ヒスタミンは H4 受容体を介して CD8+T 細胞から IL-16 を分泌させ、CD4+T 細胞を遊走させる働きも知られており、H4 受容体がアレルギー反応を増悪させることが *in vitro* で示されている。

(2) その一方で、ヒスタミンは H4 受容体を介して CCL2 や IL-12 の産生を *in vitro* で抑制し、アレルギー反応を改善させる可能性も報告されている。

2. 研究の目的

(1) マウスにハプテンを塗布して感作を成立させ後に、ハプテンの再塗布によりアレルギー反応を惹起すると急性のアレルギー性接触皮膚炎を発症する。この際、病変部は Th1 サイトカインが優勢である。

(2) マウスにハプテンを反復塗布すると慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症する。皮膚病理組織学的に慢性湿疹を呈し、病変部では肥満細胞や好酸球の浸潤と Th2 サイトカインの増加、血漿中では IgE 量の上昇を認める。

(3) (1) の急性アレルギー性接触皮膚炎と (2) の慢性アレルギー性接触皮膚炎 (アトピー性皮膚炎に類似する) の疾患モデルを用いて、アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミンの H4 受容体を介する作用について検討した。

3. 研究の方法

(1) アレルギー性皮膚炎の発症  
C57BL/6 マウスとヒスチジン脱炭酸酵素

を排除したヒスタミン欠如マウスを使用した。マウスの耳介に 2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene (TNCB) を塗布して感作を成立させた後に、耳介に再度 TNCB を塗布して contact hypersensitivity 反応を起させた。一方、背部に TNCB を 10 日間反復塗布して慢性アレルギー性皮膚炎を発症させた。

(2) 耳介厚測定

Digimatic Micrometer を用いて、惹起前と TNCB で惹起 24 時間後の耳介厚を測定し、耳介の腫脹 (両者の差) を求めた。

(3) 皮膚病理組織分析

急性病変 (耳介) と慢性病変 (背部) の皮膚病理組織に対して hematoxylin-eosin、toluidine blue、berberine sulfate、EoProbe eosinophil 染色を行なった。さらに、抗 H4 受容体抗体と抗 IgE 抗体を用いた免疫染色も行なった。

(4) 皮膚病変部のサイトカイン測定

TNCB を反復塗布した背部の皮膚を採取し、Th1 サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-12) 量と Th2 サイトカイン (IL-4、5、6) 量を ELISA 法にて測定した。

(5) 血漿 IgE 測定

血漿中の IgE 量を ELISA 法にて測定した。

4. 研究成果

(1) H4 受容体と急性アレルギー性接触皮膚炎の関係

耳介厚の変化に対して、ヒスタミン欠如マウスへの H4 受容体作動剤の投与は無効であった。野生型マウスへの H4 受容体拮抗剤の投与も効果が見られなかった。耳介の皮膚病理組織にもヒスタミン欠如マウスに対する H4 受容体作動剤及び野生型マ

ウスに対する H4 拮抗剤の投与は影響を与えなかった。H4 受容体は急性アレルギー性接触皮膚炎には無関係あり、ヒスタミンは contact hypersensitivity 反応には関与していないとする過去の報告と一致した。

#### (2) H4 受容体と慢性アレルギー性接触皮膚炎の皮膚病理組織

ヒスタミン欠如マウスへの H4 受容体作動剤の投与により慢性アレルギー性皮膚炎の皮膚病理組織が増悪した。表皮肥厚と真皮への炎症細胞浸潤が顕著になった。一方、野生型マウスへの H4 受容体拮抗剤の投与により病理組織は改善した。表皮の肥厚は軽減し、真皮に浸潤している炎症細胞も減少した。慢性のアレルギー性接触皮膚炎において、ヒスタミンは H4 受容体を介して皮膚病理組織を増悪させていることが明らかになった。

#### (3) H4 受容体と好酸球・肥満細胞

Hematoxylin-eosin と EoProbe eosinophil 染色により皮膚病変部への好酸球の浸潤が確認できた。Toluidine blue と berberine sulfate 染色により皮膚病変部への肥満細胞の浸潤も検証できた。ヒスタミン欠如マウスへの H4 受容体作動剤の投与により病変部における好酸球と肥満細胞数が有意に増加した。一方、野生型マウスへの H4 受容体拮抗剤の投与により病変部における好酸球と肥満細胞数が有意に減少した。抗 IgE 抗体と抗 H4 受容体抗体を用いた二重染色により、病変部に浸潤している肥満細胞は H4 受容体を発現していることが明らかになった。無疹部の肥満細胞では H4 受容体の発現が免疫組織化学的には認められなかった。慢性アレルギー性接触皮膚炎の病変部においては、ヒスタミンは H4 受容体を介して好酸球と肥満細胞を遊走させることを示していた。

#### (4) H4 受容体と Th2 サイトカイン

ヒスタミン欠如マウスに H4 受容体作動剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させると、皮膚病変部の IL-4、5、6 が有意に増加した。一方、野生型マウスに H4 受容体拮抗剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させた場合には、病変部の IL-4、5、6 は減少した。アレルギー性接触皮膚炎の慢性化に伴う Th1 から Th2 へのシフトにはヒスタミンと H4 受容体が関与していることが明らかになった。

#### (5) H4 受容体と Th1 サイトカイン

ヒスタミン欠如マウスに H4 受容体作動剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触

皮膚炎を発症させると、皮膚病変部の IL-12 は有意に減少し、IFN- $\gamma$  は有意差を認めないものの減少する傾向がみられた。一方、野生型マウスに H4 受容体拮抗剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させた場合は、病変部の IL-12 は有意に増加し、IFN- $\gamma$  は有意差を認めないものの増加する傾向がみられた。Th1 と Th2 とは拮抗する関係にあり、アレルギー性接触皮膚炎の慢性化に伴う Th1 から Th2 へのシフトにはヒスタミンと H4 受容体が関与していることが Th1 サイトカインの分析からも証明された。

#### (6) H4 受容体と IgE

ヒスタミン欠如マウスに H4 受容体作動剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させると、血漿中の IgE は増加した。一方、野生型マウスに H4 受容体拮抗剤を投与しながら、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させた場合は、血漿中の IgE は減少した。この実験から、血漿中の IgE の増加に H4 受容体が関与していることがわかった。慢性アレルギー性皮膚炎であるアトピー性皮膚炎の重症例では血漿中の IgE が高値を示し、症状の改善とともに IgE 値が低下してくることが知られており、H4 受容体拮抗剤が治療薬として有効である可能性を示唆している。しかし、H4 受容体による IgE の増減は 25% 程度と限定的であり、IgE 産生には他に多くの要因が関わっていると考えられる。

#### (7) H4 受容体と慢性アレルギー性接触皮膚炎との関係

本実験から、ハプテンを繰り返し塗布して発症させた慢性アレルギー性接触皮膚炎では、肥満細胞に H4 受容体の発現が認められ、H4 受容体の作用を介して皮膚病変部に好酸球と肥満細胞が浸潤してくることがわかった。また、H4 受容体が働くと IL-4、5、6 と IgE が増加し、IL-12 が減少した。アレルギー性接触皮膚炎ではアレルギーによる惹起を繰り返すうちに、Th1 から Th2 へシフトすることが知られており、アトピー性皮膚炎や慢性アレルギー性接触皮膚炎では Th2 優位である。この現象にヒスタミンの H4 受容体が限定的ではあるものの関与していることが本研究で明らかになり、H4 受容体拮抗剤の投与が両疾患に有効である可能性が示唆される。

## 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2件)

- ① Seike M, Furuya K, Thioperamide (H3 and H4 receptor antagonist) improves eczematous lesions in murine contact dermatitis、相模女子大学紀要、査読なし、71B、2007、7-13
- ② Seike M, Furuya K, Omura M, Hamada-Watanabe K, Matsushita A, Ohtsu H, Histamine H4 receptor antagonist ameliorates chronic allergic contact dermatitis induced by repeated challenge、Allergy、査読有、2010、65、319-326

[学会発表] (計2件)

- ① 清家正博、慢性アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミン H4 受容体の作用、第40回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、2010年12月10日、広島市
- ② 清家正博、接触皮膚炎におけるヒスタミンの H4 受容体を介する作用、第52回日本皮膚科学会高知地方会例会、2008年9月13日、高知市

[その他]

(1) ホームページ

<http://www.sagami-wu.ac.jp/seike.html>

(2) 清家正博、濱田久美子、松下亜由子、渋谷優子、肌とアレルギーについて、第1回相模女子大学教育・研究発表会、2010年

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

清家 正博 (SEIKE MASAHIRO)  
相模女子大学短期大学部・食物栄養学科・教授  
研究者番号：50346714

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：