

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791105

研究課題名（和文）脂質メディエーターによる好酸球の皮膚浸潤メカニズムと
その生理的役割の解明研究課題名（英文）Roles of sphingosine-1-phosphate for eosinophil localization and
function in mice研究代表者 杉田 和成 (SUGITA KAZUNARI)
産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：40412647

研究成果の概要（和文）：スフィンゴシン-1 リン酸(S1P)の好酸球循環動態および皮膚浸潤における役割について検討した。IL-5 トランスジェニックマウスに FTY720 を投与すると、血中好酸球数が低下する。また、好酸球のケモタキシスが亢進した。加えて、FTY720 投与下では好酸球のマウス骨髄からの移出が抑制した。アトピー性皮膚炎モデルマウスに FTY720 を投与すると、好酸球の皮膚浸潤が低下し、遅発型反応が低下した。S1P は好酸球関連皮膚疾患における、皮膚浸潤に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We monitored numerical alternations of eosinophils in IL-5 transgenic mice following FTY720 administration. The number of circulating eosinophils was significantly decreased in IL-5 transgenic mice treated by FTY720, suggesting that eosinophils are S1P-S1P1 sensitive. Accordingly, eosinophils showed a chemotactic response to S1P through a transwell assay. Additionally, eosinophils accumulated in the bone marrow, when S1P mediated signaling was disrupted by FTY720 treatment. We then showed the increment of cutaneous eosinophils using a murine atopic dermatitis model induced by repeated hapten application. FTY720 administration before the final challenge decreased the number of cutaneous eosinophils along with reduction of the ear swelling response, of the late phase reaction. These findings suggest that S1P-S1P1 signaling regulates the egress of eosinophils from the bone marrow and affects cutaneous eosinophil localization and resultant late phase reaction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：皮膚炎症・再生学

1. 研究開始当初の背景

近年、S1P は脂質メディエーターとして注目されている。しかし、細胞増殖促進、細胞分化誘導、細胞骨格・細胞運動調節、血管収縮など多彩な生理活性を示すにもかかわらず、好酸球における役割は未解明である。また、S1P アゴニストによる好酸球の循環動態メカニズムの解明や皮膚浸潤の制御は直接、好酸球関連皮膚疾患の治療に寄与する可能性が高い。

2. 研究の目的

- (1) IL-5 トランスジェニックマウスにおけるS1Pの好酸球皮膚浸潤における役割の解明。
- (2) IL-5 トランスジェニックマウスとS1P受容体アゴニストを用いた好酸球循環動態メカニズムの包括的解明。
- (3) 好酸球におけるS1P受容体発現の解明。
- (4) IL-5 トランスジェニックマウスにおけるS1Pの好酸球遊走の解明。

3. 研究の方法

(1) 接触皮膚炎モデルにおける遅発型反応の形成と好酸球浸潤におけるS1Pの役割の解明を図る。具体的には、IL-5トランスジェニックマウスにハプテン反復塗布を行い耳翼腫脹を検討する。即時型（惹起後1-2時間）、遅発型（惹起後4-8時間）、遅延型過敏反応（惹起後24-48時間）について評価する。惹起直前にS1P受容体アゴニストであるFTY720を投与する。主に好酸球による遅発型反応の程度と耳翼への好酸球浸潤の程度を評価することにより脂質メディエーターであるS1Pの役割を解明する。

(2) IL-5トランスジェニックマウスにS1P受容体アゴニストを投与し、末梢血中の好酸球数を検討する。S1Pアゴニスト投与後の2次リンパ組織における好酸球の局在をフローサイトメトリで解析する。

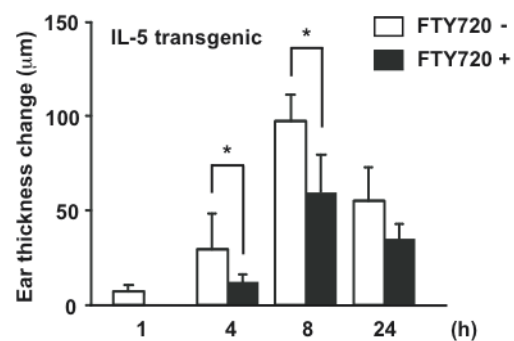
(3) IL-5 トランスジェニックマウスの骨髄を採取し、セルソーターで分離した好酸球を準備する。その好酸球からmRNAを回収し、リアルタイム定量的PCRによりS1P受容体の発現レベルを確認する。

(4) 好酸球とS1Pに対する化学遊走能をトランスウェルにより検証する。

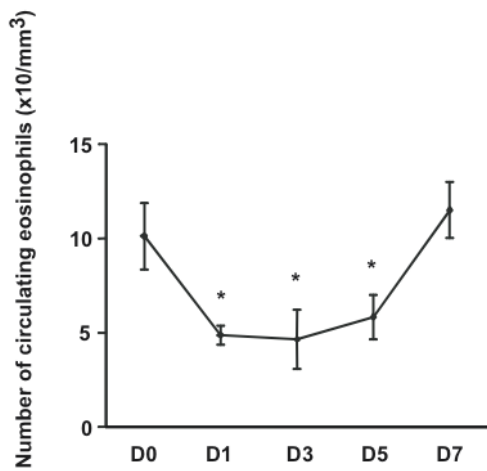
4. 研究成果

IL-5 トランスジェニックマウス皮膚にハプテンを反復塗布し、最終惹起前に FTY720 を投与すると、有意に遅発型反応が抑制された。

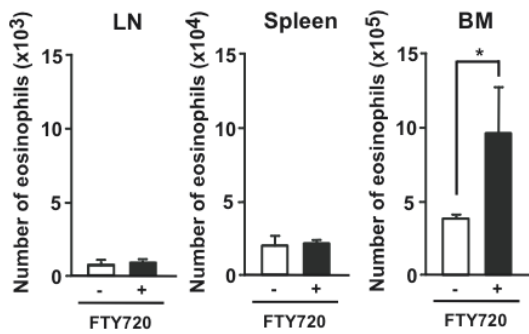
最終惹起後、4-8 時間のマウス耳翼腫脹に示される(図 1)。また、IL-5 トランスジェニックマウスに FTY720 を投与すると、末梢血好酸球数が有意に低下した(図 2)。投与後、1日(D1)から5日(D5)で顕著に低下し、7日(D7)で回復した。また、リンパ組織における好酸球の局在を調べると、リンパ節(LN)と脾臓(Spleen)では FTY720 投与による影響はほとんど受けないが、骨髄(BM)では投与後、有意に好酸球数が増加した(図 3)。また、C57BL/6(B6)マウスに IL-5 を静注すると末梢血中の好酸球数は増加するが、FTY720 を投与すると増加はわずかであった(図 4)。さらに、FTY720 投与群では IL-5 静注後、骨髄中の好酸球数が増加した(図 4)。また、好酸球(Eos)には S1P 受容体である S1P1 が発現していた(図 5)。ケモタキシスアッセイにおいて、好酸球は S1P に遊走を示したが、FTY720 や S1P1 特異的なアゴニストである SEW2871 処理群では遊走は低下することが明らかになった。



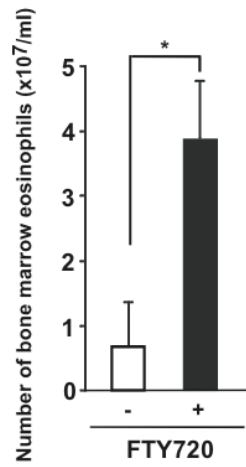
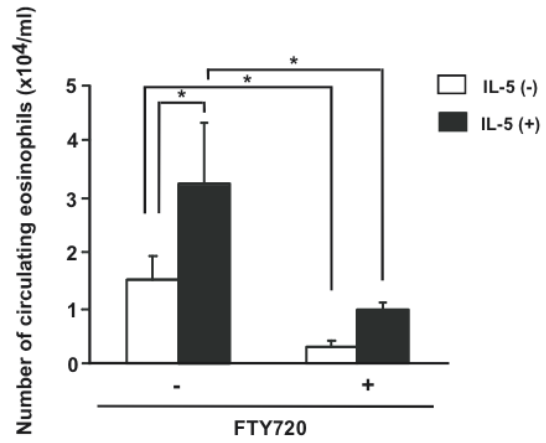
〈図 1〉FTY720 は IL-5 トランスジェニックマウスの遅発型反応を抑制する



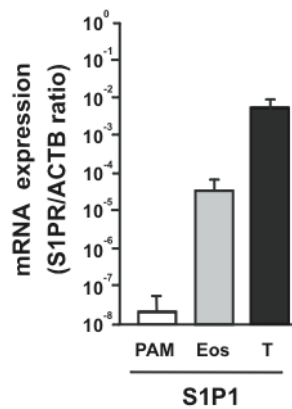
〈図 2〉FTY720 は IL-5 トランスジェニックマウスの末梢血好酸球数を低下させる



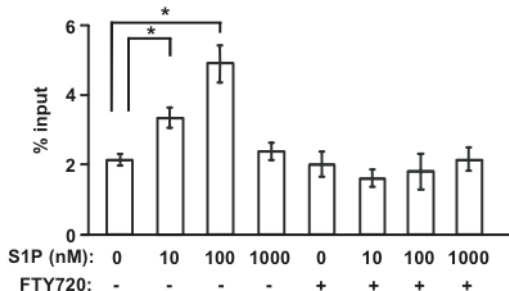
〈図 3〉IL-5 トランスジェニックマウスに FTY720 投与後、好酸球は骨髄に局在する



〈図 4〉B6 マウスに IL-5 を静注したマウスに FTY720 を投与すると、末梢血好酸球数が低下し骨髄中の好酸球数は増加する



〈図 5〉マウス好酸球には S1P1 が発現している



<図 6>好酸球は S1P に遊走を示す

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 Sugita K, Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tanizaki H, Tokura Y. FTY720 regulates bone marrow egress of eosinophils and modulates late-phase skin reaction in mice. Am J Pathol. 2010;177:1881-1887. (査読有)

[学会発表] (計 2 件)

① 杉田和成 Sphingosine-1-phosphate regulates cutaneous localization and bone marrow egress of eosinophils. 日本研究皮膚科学会第34回年次学術大会・総会 平成21年12月5日 福岡市

② 杉田和成 Sphingosine-1-phosphate regulates cutaneous localization and bone marrow egress of eosinophils. 第39回日本免疫学会総会・学術集会 平成21年12月2日 大阪市

[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 0 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

杉田 和成 (SUGITA KAZUNARI)
 産業医科大学・医学部・助教
 研究者番号：40412647

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：