

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25年 5月 10日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591218

研究課題名（和文） 好塩基球を標的とした慢性痒疹・痒疹反応の機序の解析と新規治療の開発

研究課題名（英文） Analysis for the mechanism of prurigo reaction focusing on basophils

研究代表者

横関 博雄（YOKOZEKI HIR00）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：90210608

研究成果の概要（和文）：中高齢者に多い難治性疾患である慢性痒疹・アトピー性皮膚炎の痒疹反応の発症機序を好塩基球の機能解析を主体としてまず痒疹の病変部、末梢血中の好塩基球の表面マーカーを解析、さらに皮膚の重症度との関連性を検討。一方、痒疹反応のモデルマウスとして抗原特異的 IgE 遺伝子導入マウスを用いて同一部位に大量の抗原投与による痒疹モデルマウスを作成して病態を解析する。In vitro では好塩基球の活性化機序を解析するため亜鉛トランスポーター、メタロチオネイン（MT）の機能解析、プロスタグランジン D₂ の産生機序および抗原特異的 IgE 遺伝子導入マウスの第3相反応における役割も解析して好塩基球を標的とした痒疹の新規治療法の開発する。今年度は抗原特異的 IgE 遺伝子導入マウスを用いた痒疹の病態解析を行った。東京医科歯科大学烏山一教授のグループと共同研究で抗原特異的 IgE 導入マウスを用いて背部に高濃度の TNP-IgE を大量に皮下投与して痒疹モデルマウスを作製した。孤立性の角化性丘疹で好塩基球、好酸球、肥満細胞が密に浸潤。このモデルマウスを用いて発症機序、痒疹反応との相違などに関して検討する。好塩基球に特異的モノクローナル抗体を用いて新規治療法の開発。すでに当教室メデイカルフェローの宇賀神君が好塩基球特異的モノクローナル抗体を作成しているので、これらの抗体による治療法の可能性を検討した(Ugajin T, J Leukoc Biol, 2009)。

研究成果の概要（英文）：

Prurigo is a common disease characterized by urticarial papules and nodules with severe itching. The pathological mechanism causing prurigo remains unclear, although Th2-type immunity has been implicated in its etiology and our recent study showed a number of basophils in prurigo lesion. The present study demonstrated that repeated intra-dermal injection of TNP-OVA to dorsal skin lesions. Histologically, marked hyperkeratosis with irregular acanthosis was accompanied by dense infiltrate comprising mononuclear cells, eosinophils, and increased number of mast cells.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 2012年度 | 500,000 | 150,000 | 650,000 |
| 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：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：(1)好塩基球 (2)痒疹 (3) Th2 サイトカイン (4) プロテアーゼ (5) モノクローナル抗体 (6) STAT6 (7) IgE (8) 蕁麻疹

1. 研究開始当初の背景

痒疹は痒みを伴う孤立性の丘疹である。慢性的に続く痒みにより患者のQOLは著しく損なわれる。しかしその病態はいまだ明らかでない。痒疹は慢性腎不全をはじめとする種々の基礎疾患に関連して生じることが多いが、アトピー性皮膚炎患者にもしばしば痒疹病変が形成されることが知られている。痒疹の一部は蕁麻疹様病変ではじまりやがて持続性の丘疹ないし結節性病変へと変化する。

2. 研究の目的

今回はこの現象に着目してIgE依存性に痒疹病変マウスモデルの作成を試みた。

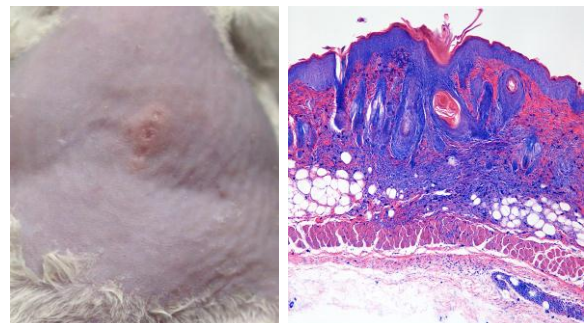
3. 研究の方法

IgE トランスジェニックマウス(IgE-Tgマウス)の耳介や背部皮膚にTNP(trinitrophenyl)-OVA(ovalbumin)を反復皮下または皮内投与し、その肉眼的および組織学的変化を観察した。

4. 研究成果

IgE-Tgマウスの耳介にTNP-OVAをDay 1, 4, 7に反復皮下投与したところ強い耳介腫脹反応がみられ、その反応は1か月以上持続した。Wild-typeであるBALB/cマウスでは軽度の耳介腫脹がみられたが、その反応はすみやかに収束した。次にIgE-Tgマウス背部皮膚に同様にTNP-OVAを皮内投与したところ丘疹性病変が形成された。組織学

的には不規則な表皮肥厚、真皮の単核球、好酸球浸潤がみられ、またマスト細胞が増加していた。さらに真皮や表皮内に mast cell protease 8 陽性好塩基球の浸潤がみられた。さらにこれらのマウスでは病変部への自発的搔破行動が確認された。病変部組織抽出蛋白を用いてELISA法による解析を行ったところ、IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IL-22, TGFβなどのサイトカイン産生が確

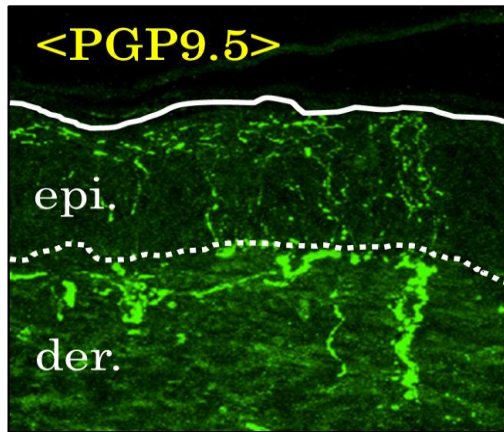


認された。さらに Type I collagen や nerve growth factor、そして痒みサイトカインである IL-31 mRNA も増加していた。

図1：痒疹モデルマウスの肉眼所見と病理所見

病変部周辺表皮ではPGP9.5(+)神経線維の sprouting が観察された。またこの病変の反応は好塩基球除去抗体によってすみやかに収束した。

図2：表皮内に神経は伸長



5. 考察

ヒトにおける痒疹については既に、病変部皮膚において IL-4, 17, 22, 31 の mRNA 発現が増加し (Park K *et al*, *Eur J Dermatol*, 2011)、病変部の表皮核内に pSTAT3, pSTAT6 が局在していること (Fukushi S *et al*, *Br J Dermatol*, 2011) が報告されている。今回作成したマウスの皮膚病変は、組織学的にも局所サイトカインプロファイルもヒト痒疹と類似していた。ヒト痒疹では好塩基球の病変部への浸潤が明らかであり、今回のマウスモデルも好塩基球依存性である。マウスモデルにおいて好塩基球を除去すると反応が減弱することから、ヒト痒疹において好塩基球は治療のターゲットとなりうる可能性があると考えられた。また、STAT6 欠損マウスではこの反応は予想に反して増強しており、STAT6 が病態にどのように関与しているのか今後詳細な解析が必要であると考えた。

5. 結論

マウスに IgE-CAI を反復して惹起させることにより、ヒトの痒疹と類似する病変を作成した。これを痒疹モデルマウスとして解析することで、病態の解析や新たな治療法の開発などが可能になると考えられる。

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6件)

1. Satoh T, Wakabayashi T, Ueda N, Yokozeki H: Disseminated BCG infection in severe combined immunodeficiency. Acta Derm Venereol 92: 158-159, 2012.
2. Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeki H. Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation. Mol Immunol 49: 304-310, 2012.
3. Tanaka T, Satoh T, Tanaka A, Yokozeki H. Congenital insensitivity to pain with anhidrosis: a case with preserved itch sensation to histamine and partial pain sensation. Br J Dermatol 166: 888-891, 2012.
4. Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeki H. Anti-pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. Exp Dermatol 21: 201-204, 2012.
5. Kanai Y, Satoh T, Yokozeki H. Impaired expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis. Acta Derm-Venereol 92: 367-371, 2012.
6. Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H. Erythrodermic psoriasis improved by panitumumab. Acta Derm Venereol 92: 360-361, 2012.
7. 横関 博雄: クセサリーオーガンとオーラルケアの香粧品学 エチケットのサイエンス 発汗の機序と発汗異常を伴う疾患、日本香粧品学会誌 36 巻 2 号 108-113, 2012
8. 横関 博雄: 接触皮膚炎診療ガイドラインダイジェスト、PTM: 最新の疾患別治療マニュアル 19-20. 2012

9. 佐藤 貴浩(東京医科歯科大学 医学部皮膚科), 横関 博雄, 片山 一朗, 室田 浩之, 新樹, 朴 紀央, 梶島 健治, 中溝 聡, 高森 建二, 塩原 哲夫, 三橋 善比古, 森田 栄伸, 日本皮膚科学会ガイドライン 慢性痒疹診療ガイドライン: 日本皮膚科学会雑誌 122 巻 1 号、1-162012
10. 6. 横関博雄: 皮膚アレルギー疾患における核酸医薬療法、Jpn J Clin Immunol, 35(2)107-111, 2012

[学会発表] (計4件)

1. つかさ, 佐藤貴浩: ヒト皮膚疾患における好塩基球浸潤と活性化 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 軽井沢 7月14日 2012 (シンポジウム)
2. 佐藤貴浩: 痒疹の考え方と諸問題 日本皮膚科学会岩手地方会学術大会第360回例会 盛岡 11月11日, 2012 (特別講演)
3. 端本宇志, 片岡直子, 佐藤貴浩, 横関博雄: インドメタシンが奏功した木村氏病, 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 軽井沢, 2012/7/13
4. 端本宇志, 佐藤貴浩, 横関博雄: IgE と好塩基球によって誘導されるマウス痒疹反応モデルの解析, 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会, 大阪, 2012/5/13

[図書] (計5件)

1. 横関博雄: 接触皮膚炎の外用療法、「匠に学ぶ皮膚科外用療法—古きを生かす、最新を使う—(上出良一編)」、全日本病院出版会 7-11, 2012年2月10日出版
2. 横関博雄: スイッチOTCをどう考えるか、「匠に学ぶ皮膚科外用療法—古きを生かす、最新を使う—(上出良一編)」、全日本病院出版会 197-199, 2012年2月10日出版
3. 横関博雄: 急性痒疹、慢性痒疹: 今日の皮膚疾患治療指針第4版 (塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一、佐藤伸一編)、医学書院、310-313, 2012年3月15日第4版出版

4. 横関博雄: 汎発性(全身性)皮膚そいう痒症: 今日の皮膚疾患治療指針第4版 (塩原哲夫、宮地良樹、渡辺晋一、佐藤伸一編)、医学書院、316-319, 2012年3月15日第4版出版

5. 横関博雄: アトピー性皮膚炎に対する核酸医薬療法、「アレルギー疾患の免疫療法と分子標的治療—理論と実践」近藤直実編、診断と治療者、115-120, 2012年12月

[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

横関 博雄 (YOKOZEKI HIROO)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号: 90210608

(2) 研究分担者

佐藤貴浩 (SATO TAKAHIRO)

東京医科歯科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号: 30235361

(3) 研究分担者

高山かおる (KAORU TAKAYAMA)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 10420283

(4) 連携研究者

西田圭吾 (NISHIDA KEIGO)

独立行政法人理化学研究所・研究員

研究者番号：80360618