

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号： 37116  
 研究種目： 若手研究(B)  
 研究期間： 2011～2012  
 課題番号： 23791302  
 研究課題名（和文） 光線過敏症におけるナイアシンを介した皮膚免疫応答の解明  
 研究課題名（英文） Cutaneous immune responses to niacin in photosensitivity  
 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）：我々はナイアシンアンタゴニストおよびナイアシン欠乏食を用いて、ペラグラモデルマウスの作成を試みた。ナイアシンアンタゴニスト投与下でマウスに紫外線を照射すると、皮膚炎症が増強し、ドップラーエコーにより皮膚血流増加が観察された。興味深いことに、紫外線皮膚炎の増強に加え、体重減少と下痢も認めたことから、我々のマウスモデルはペラグラに特徴的な症状を伴った有用なモデルと考えられた。

研究成果の概要（英文）：Pellagra is a photosensitivity syndrome characterized by three “D” s” : diarrhea, dermatitis and dementia as a result of niacin deficiency. However, the molecular mechanisms of photosensitivity dermatitis underlying the hallmark abnormalities of this syndrome are unclear. Here we show that enhanced photosensitivity in mice was induced by treatment with a niacin antagonist as well as niacin-deficient diets, and that severe diarrhea with weight loss was induced by treatment with the niacin antagonist, which suggest that this is a model of pellagra. Intriguingly, the niacin antagonist induced elevated expression of COX-2 and PGE synthases (*Ptges*) mRNAs. The niacin antagonist treatment-induced photosensitivity was alleviated by a COX inhibitor, deficiency of *Ptges*, or blockade of EP4 receptor signaling. In line with the above findings in mice, analysis of skin lesions of pellagra patients confirmed the enhanced expression of *Ptges*. Taken together, these findings indicate that niacin deficiency results in the development of photosensitivity in pellagra mediated by signaling through EP4 in response to increased PGE production.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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

ペラグラは痴呆、下痢、皮膚炎の3徴を認める、世界的に未解決の重篤な代謝疾患であ

る。3徴のうち、皮膚炎は光線過敏性の皮疹を生じることが特徴であるが、いまだその詳細なメカニズムは明らかになっていない。ナ

ナイアシンは、ニコチン酸とニコチン酸アミドの総称で、水溶性ビタミンの1つである。このビタミンはエネルギー代謝中の酸化還元酵素の補酵素として重要である。こうした本来のビタミンとしての作用以外に近年、骨髄系細胞分化に必須であることが明らかになるなど、免疫学的にも注目されている。

臨床的にナイアシンは、その過多あるいは欠乏により皮膚症状を発症する。過剰摂取によるフラッシングは皮膚ランゲルハンス細胞の PGD2 産生の関与が明らかになっている。また、欠乏した場合には、皮膚症状、消化器症状、精神症状を三徴とするいわゆるペラグラを発症する。皮膚症状は光線過敏性の皮疹を生じるのが特徴で診断上重要な所見であるが、その発症機序は不明である。また、ナイアシンは、水疱性類天疱瘡の治療としても用いられているものの作用機序は明らかになっていない。したがって、ナイアシン欠乏症に典型的な皮膚症状である光線過敏症のメカニズムを明らかにすることは、ペラグラの病態のみならず、水疱性類天疱瘡治療におけるナイアシンの役割を解明するうえでも、意義がある。

これまで、ウロカイン酸やキヌレニンの欠乏が光線過敏症の発症機序として想定されてきた。ところが近年、抗癌剤投与患者やエイズ患者の光線過敏症増悪の1要因としてナイアシンの関与を示唆する報告がなされているが、ナイアシンによる光線過敏症の病態形成に関する詳細は解明されていない。

## 2. 研究の目的

光線過敏症をはじめとする炎症性皮膚疾患の発症や増悪におけるナイアシンの関与の詳細は未解決である。本研究はナイアシンというこれまで多くの研究者が見見過してきたビタミンファミリーに着目し、新しい観点から光線過敏症の発症機序の解明に迫るところに本研究の学術的な特色がある。さらに、本研究は、光線過敏症の発症機序を、ナイアシンと免疫応答の観点から解明を図り、さらに、一般の炎症性皮膚疾患へと展開・応用を目指している。

このマウスモデルは、ペラグラの機序の解明にも役立つと期待されるし、また、本モデルを用いる事により、新規治療薬の開発などの臨床応用の基盤になることが予想される。

以下に具体的な研究の目的の詳細について述べる。

- (1) ナイアシン欠乏下における紫外線照射の皮膚炎症への影響。
- (2) ナイアシン欠乏症モデルマウス皮膚における PGE2 の役割の解明。

(3) ナイアシン欠乏症モデルマウス皮膚におけるプロスタグランジン E 合成酵素 (PGES) 発現。

(4) ケラチノサイトの PGE2 産生におけるナイアシンの役割の解明。

(5) ヒトでのナイアシン欠乏症における光線過敏症促進因子の解明

## 3. 研究の方法

(1) ナイアシン欠乏下における紫外線照射の皮膚炎症への影響。

ナイアシンアンタゴニストを投与した C57BL/6 マウスの耳翼に UVB を照射し、マウス耳翼腫脹を測定する。また光線照射部位の皮膚組織を採取し、浸潤細胞の種類と数の同定、血管径の測定、ドップラーフローメーターにより皮膚血流量の測定も行う。

(2) ナイアシン欠乏症モデルマウス皮膚における PGE2 の役割の解明。

ナイアシン欠乏症モデルマウスに光線過敏症を誘発させる。このマウス皮膚から mRNA を回収し、リアルタイム PCR により PGE2 の発現レベルを確認する。その際、光線照射後、経時的な変化も調べる。PGE2 以外にも紫外線照射と関連のあるサイトカインについても幅広く調べ、PGE2 との比較を行う。また、光線過敏症をきたした皮膚をホモジネートし、上清中の PGE2 を ELISA で測定する。

(3) ナイアシン欠乏症モデルマウス皮膚における PGES 発現。

PGES の発現をナイアシン欠乏症モデルマウスの紫外線照射群と非照射群とでリアルタイム PCR で経時的に比較検討する。

(4) ケラチノサイトの PGE2 産生におけるナイアシンの役割の解明。

ケラチノサイトの cell line である PAM211 cell に紫外線を照射し、ナイアシンアンタゴニストを添加し、ELISA で培養上清中の PGE2 を測定する。この細胞から mRNA を抽出し PGES のリアルタイム PCR も行うことで、光線過敏症におけるナイアシンの PGE2 への関与を *in vitro* のレベルで証明する。

(5) PGES ノックアウトマウスおよび EP2 ノックアウトマウス、EP4 アンタゴニストを用いてナイアシン欠乏下での紫外線皮膚炎について検討。

これらのマウスにナイアシンアンタゴニストを投与後、紫外線を照射し、光線過敏が減弱するか検討する。

(6) T 細胞増殖能におけるナイアシンの役割の解明。

ナイアシン欠乏症モデルマウスに紫外線照射後、T細胞をリンパ節から MACS により分離し、PMA+ionomycin、mixed lymphocyte reaction により刺激する。これらの実験系にナイアシンもしくはナイアシンアンタゴニストを添加し培養。さらに、トリチウムサイミジンを加え、液体シンチレーションカウンターで細胞増殖を検討する。さらに培養液中の Th1、Th2、Th17 サイトカインを cytometric beads array で測定する。

(7) T 細胞分化におけるナイアシンの役割の解明。

ナイアシン欠乏症モデルマウスに紫外線を照射し、リンパ節細胞内の細胞内サイトカインをフローサイトメトリーで測定し、Th1、Th2、Th17、Treg への分化を評価する。

(8) ヒトでのナイアシン欠乏症における光線過敏症促進因子の解明。

ヒトナイアシン欠乏症患者における皮膚の PGES の発現について免疫組織学的に検討する。

#### 4. 研究成果

(1) ナイアシンアンタゴニスト投与下でマウスに紫外線を照射すると、皮膚炎症が増強し(図 1)、ドップラーエコーにより皮膚血流増加が観察された。

(2) ナイアシンアンタゴニスト投与下では紫外線皮膚炎の増強に加え、体重減少と下痢も認められた。

(3) 紫外線照射下でのペラグラマウス皮膚において、シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) mRNA の発現の亢進を確認した(図 2)。

(4) プロスタグランジン E 合成酵素ノックアウトマウスでは、ナイアシンアンタゴニストを投与し、紫外線を照射すると、皮膚炎症が減弱し、皮膚血流も低下した。

(5) 培養表皮ケラチノサイトにナイアシンアンタゴニストを添加の上、紫外線を照射すると、プロスタグランジン E2 の産生が亢進した。

(6) ナイアシン欠乏下で紫外線を EP4 アンタゴニスト投与マウスに照射すると紫外線皮膚炎が減弱した。

(7) ヒトペラグラ皮膚において、プロスタグランジン E 合成酵素が高発現していた。

以上の成果を以下にまとめる。紫外線照射下でのペラグラマウス皮膚において、シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) mRNA の発現の亢進を確認した。反対にプロスタグランジン E 合成酵素ノックアウトマウスでは、ナイアシンアンタゴニストを投与し、紫外線を照射すると、皮膚炎症が減弱し、皮膚血流も低下した。

また、培養表皮ケラチノサイトにナイアシンアンタゴニストを添加の上、紫外線を照射すると、プロスタグランジン E2 の産生が亢進した。他方、ナイアシン欠乏下で紫外線を EP4 アンタゴニスト投与マウスに照射すると紫外線皮膚炎が減弱した。さらに、ヒトペラグラ皮膚において、プロスタグランジン E 合成酵素が強く発現していることを示した。これらの知見から、ペラグラの光線過敏症はプロスタグランジン E2-EP4 シグナルを介して生ずることが示唆された。

図 1

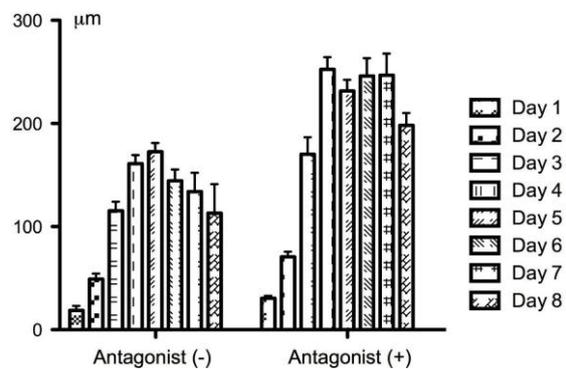


図 1 ナイアシンアンタゴニスト投与による紫外線皮膚炎の増強

図 2

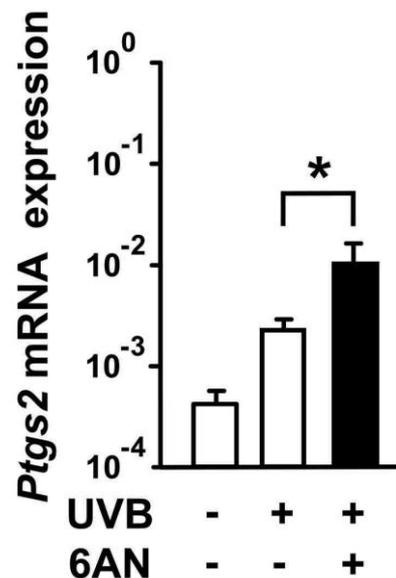


図 2 ナイアシンアンタゴニスト (6-AN) 投与による COX-2 (*Ptgs2*) の高発現

#### 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, Kuroda E, Nakamura M, and Tokura Y: Role of prostaglandin E2 for photosensitivity of murine pellagra model. *Photomedicine and Photobiology* 33:3-4, 2011 (査読無)

[学会発表] (計 5 件)

(1) Sugita K, Kabashima K, Jun-ichi Sakabe, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Akira S, Nakamura M, Naruyumiya S, Miyachi Y, and Tokura Y: Role of prostaglandin E2-EP2/EP4 signaling in the development of photosensitivity in pellagra. 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Okinawa, Japan, 2012 年 12 月 8 日

(2) Sugita K, Nomura T, Jun-ichi Sakabe, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Akira S, Nakamura M, Miyachi Y, Tokura Y, and Kabashima K: Role of prostaglandin E2-EP2/EP4 signaling in the development of photosensitivity in pellagra. 第 41 回日本免疫学会学術集会, 神戸, 2012 年 12 月 6 日

(3) Sugita K, Kabashima K, Jun-ichi Sakabe, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, and Tokura Y: Role of prostaglandin E2-EP2/EP4 signaling in the development of photosensitivity in pellagra. IEIIS2012, Tokyo, Japan, 2012 年 10 月 25 日

(4) Sugita K, Kabashima K, Sakabe J, Kuroda E, Nakamura M, and Tokura Y: Establishment and PGE2 requirement of a new mouse model for pellagra. 41<sup>st</sup> Annual European Society for Dermatological Research Meeting, Barcelona, Spain, 2011 年 9 月 8 日

(5) 杉田和成, 梶島健治, 坂部純一,

黒田悦史, 中村元信, 戸倉新樹:  
光線過敏症におけるナイアシンの役割  
第 33 回日本光医学・光生物学会, 大阪, 2011  
年 7 月 22 日

#### 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: