

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 3 日現在

機関番号：14301
研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）
研究期間：2011～2014
課題番号：23116101
研究課題名（和文）免疫・アレルギー性皮膚疾患と脂質メディエーター

研究課題名（英文）Lipid mediators in allergy and immunity

研究代表者

宮地 良樹（Miyachi, Yoshiki）

京都大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：30127146

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 62,700,000 円

研究成果の概要（和文）：脂質メディエーターは、免疫・アレルギー発症のバランスを司っていることが推測される。そこで、皮膚免疫・アレルギー疾患患者からの臨床検体を元に、各疾患特異的な脂質メディエーター関連のシーズを発掘し、マウスとヒトの両方向から包括的に役割を解明することが重要課題である。本研究では、アトピー性皮膚炎を一つのモデルとして、マウス・ヒトの見地から、脂質メディエーターの免疫・アレルギーにおける役割の解明と治療応用の基盤を形成するプロセスを確立した。そしてこのプロセスを他の免疫・アレルギー疾患にも適用することにより、ヒトとマウス研究の橋渡しの研究の遂行し、広く世間に応用されるplatformを形成した。

研究成果の概要（英文）：Prostanoids, which include prostaglandin and thromboxane, are metabolites of arachidonic acid released in various pathophysiological conditions. They induce a range of actions mediated through their respective receptors expressed on target cells. It has been demonstrated that each prostanoid receptor has multiple functions and that the effect of receptor stimulation can vary depending on context; this sometimes results in opposing effects, such as simultaneous excitatory and inhibitory outcomes. The balance between the production of each prostanoid and the expression of its receptors has been shown to be important for maintaining homeostasis but also involved in the development of various pathological conditions such as allergy.

研究分野：皮膚科学

キーワード：免疫 アレルギー 皮膚科学

1. 研究開始当初の背景

脂質メディエーターは、ホメオスタシスの維持と免疫・アレルギー発症のバランスを司っていることが推測されるが、多数の候補脂質メディエーターの中で、どれが本質的に各免疫・アレルギー疾患に関与しているのか、さらに、ヒトでの役割の詳細について不明である。そこで、皮膚免疫・アレルギー疾患患者からの臨床検体を元に、各疾患特異的な脂質メディエーター関連のシーズを網羅的に発掘し、マウスとヒトの両方向から包括的に役割を解明することが重要課題であると申請者は考えた。

2. 研究の目的

申請者の運営する京都大学医学研究科・皮膚科学教室はこれまで、免疫・アレルギー性皮膚疾患病態解明、脂質メディエーターの紫外線発癌形成における役割の解明などにより、皮膚免疫応答の多様性獲得機序を明らかにしてきた。また、今回の領域研究では、京大皮膚科に蓄積された臨床検体を複数の支援センターにより解析し、技術・リソース・情報を共有する。そのため、皮膚の脂質の定量、遺伝子網羅的解析、SNP解析により、疾患発症に関与する脂質メディエーターを特定し、さらにその遺伝子改変マウスを作製するという一連の研究過程を遂行することが可能となり、生命現象における脂質の役割を脂質メディエーターの観点から包括的かつ網羅的に捉え、ヒトに還元することが期待される。

そこで、本研究では、アトピー性皮膚炎を一つのモデルとして、マウス・ヒトの見地から、脂質メディエーターの免疫・アレルギーにおける役割の解明と治療応用の基盤を形成するプロセスを確立したい。そしてこのプロセスを他の免疫・アレルギー疾患にも適用することにより、ヒトとマウス研究の橋渡しの研究的な遂行につながり、広く世間に応用される platform となることを目指す。

3. 研究の方法

アトピー性皮膚炎をモデルに脂質メディエーターの役割をマウス・ヒトの両方面より包括的かつ網羅的に解明し、この方法論をもとに尋常性乾癬など他の免疫・アレルギー疾患における脂質メディエーターの役割の解明へと拡張していく。

1. アトピー性皮膚炎患者と健常人の皮膚における脂質の質量・定性解析(東京大学・質量分析センターとの共同研究)と網羅的遺伝子発現解析(九州大学・発現プロファイル解析センター)により発症に関与する候補脂質メディエーターを

特定する。

2. 候補脂質メディエーターをコードする遺伝子の SNP 解析を行い(九州大学・ヒト SNP 解析センターとの共同研究)、脂質メディエーターの遺伝子レベルにおけるヒト疾患への関与を探索する。

3. 候補遺伝子の改変マウスを作成し(熊本大学・遺伝子改変マウスセンターとの共同研究)、バリア機能、免疫学的プロファイルやアトピー性皮膚炎モデルでの評価などを施行し、免疫・アレルギーにおける当該脂質メディエーターの役割を解明する。

4. 申請者らが所有する全プロスタノイド受容体欠損マウスや他の研究計画班の候補脂質メディエーター遺伝子改変マウスを用いて、アトピー性皮膚炎モデルにおける解析を行う。

1-4 の本研究手法を用いて、既に当教室に保存されている尋常性乾癬などの他の免疫・アレルギー疾患に応用し、脂質メディエーターの役割を解明する。

4. 研究成果

アトピー性皮膚炎と健常者の皮膚病変部より患者の同意のもとに皮膚生検を施行し、DNA マイクロアレイ法とメタボローム解析により遺伝子発現 profile を検討した。現在アトピー性皮膚炎における PGE2 をはじめとするプロスタグランジンの役割を皮膚症状の進展、IgE 誘導の観点から解析を行っている。COX 阻害によりマウスアトピー性皮膚炎の症状の増悪や血清 IgE 値の上昇を認めた。従って、プロスタグランジンはアトピー性皮膚炎の進展に防御的に作用している可能性があり、現在責任受容体の同定を行っている。

また、インドメタシンが著効する好酸球性膿疱性毛包炎の患者におけるプロスタグランジン合成酵素の発現を免疫染色法により検証した。好酸球性膿疱性毛包炎の患者において PGD 合成酵素の発現が亢進していた。PGD は脂腺に作用して好酸球の遊走を誘導するエオタキシンの合成を誘導した。また、ウイルスの自然免疫認識に働く TLR により PGD2 によるエオタキシンの産生亢進を認めた。以上の成果は PGD2 が好酸球性膿疱性毛包炎の病態形成に関与していることを示唆する。本成果は Journal of Allergy and Clinical Immunology に掲載された。

また、ニコチン酸欠乏で生じるペラグラ病の原因に、紫外線照射による PGE2 と ROS の産生亢進が深く関与していることを示した。さらに、マウスにおけるペラグラ皮膚炎がプロスタグランジンの合成を阻害する NSAID の投与により抑制されることも示した。以上の結果は、ペラグラの発症にプロスタグランジ

ンが関与するのみならず治療の標的ともなることを意味している。本成果は Scientific reports に掲載された。

さらに、京都大学皮膚科外来に保存されている免疫・アレルギー性皮膚疾患患者(尋常性乾癬など)と健常人の皮膚組織より脂質やmRNAを抽出し、両者間の脂質の質量・定性やmRNAプロファイルを解析した(東京大学・質量分析センターとの共同研究)。すると、トロンボキサンA2の代謝物が尋常性乾癬の皮膚において大量に検出された。

そこで、トロンボキサン A2 の尋常性乾癬における役割を検証するためにトロンボキサン A2 受容体である TP の欠損マウスを用いて解析を行った。TP 欠損マウスでは、イミキモド外用により誘導されるマウス尋常性乾癬モデルにおいて、炎症反応が著明に減弱していた。さらに、IL-17 を産生する gamma-delta T 細胞の炎症皮膚への浸潤が有意に減弱していた。したがって、尋常性乾癬の病態形成においてトロンボキサン A2 が関与している事が示唆された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 31 件)

1. Natsuaki Y, Egawa G, Nakamizo S, Ono S, Hanakawa S, Okada T, Kusuba N, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Nakajima S, Tsuchiya S, Sugimoto Y, Ishii KJ, Tsutsui H, Yagita H, Iwakura Y, Kubo M, Ng LG, Hashimoto T, Fuentes J, Guttman-Yassky E, Miyachi Y, Kabashima K. 2014. Perivascular leukocyte clusters are essential for efficient activation of effector T cells in the skin. *Nat Immunol* 15: 1064-9
2. Nakashima C, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Egawa G, Nakajima S, Nakamizo S, Arita M, Kubo M, Miyachi Y, Kabashima K. 2014. Basophils regulate the recruitment of eosinophils in a murine model of irritant contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 134: 100-7
3. Morimoto K, Shirata N, Taketomi Y, Tsuchiya S, Segi-Nishida E, Inazumi T, Kabashima K, Tanaka S, Murakami M, Narumiya S, Sugimoto Y. 2014. Prostaglandin E2-EP3 signaling induces inflammatory swelling by mast cell activation. *J Immunol* 192: 1130-7
4. Mizuno R, Kamioka Y, Kabashima K, Imajo M, Sumiyama K, Nakasho E, Ito T, Hamazaki Y, Okuchi Y, Sakai Y, Kiyokawa E, Matsuda M. 2014. In vivo imaging reveals PKA regulation of ERK activity during neutrophil recruitment to inflamed intestines. *J Exp Med* 211: 1123-36
5. Liu M, Saeki K, Matsunobu T, Okuno T, Koga T, Sugimoto Y, Yokoyama C, Nakamizo S, Kabashima K, Narumiya S, Shimizu T, Yokomizo T. 2014. 12-Hydroxyheptadecatrienoic acid promotes epidermal wound healing by accelerating keratinocyte migration via the BLT2 receptor. *J Exp Med* 211: 1063-78
6. Sugita K, Ikenouchi-Sugita A, Nakayama Y, Yoshioka H, Nomura T, Sakabe J, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. 2013. Prostaglandin E(2) is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production. *Sci Rep* 3: 2973
7. Otsuka A, Nakajima S, Kubo M, Egawa G, Honda T, Kitoh A, Nomura T, Hanakawa S, Sagita Moniaga C, Kim B, Matsuoka S, Watanabe T, Miyachi Y, Kabashima K. 2013. Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nat Commun* 4: 1739
8. Miki Y, Yamamoto K, Taketomi Y, Sato H, Shimo K, Kobayashi T, Ishikawa Y, Ishii T, Nakanishi H, Ikeda K, Taguchi R, Kabashima K, Arita M, Arai H, Lambeau G, Bollinger JM, Hara S, Gelb MH, Murakami M. 2013. Lymphoid tissue phospholipase A2 group IID resolves contact hypersensitivity by driving antiinflammatory lipid mediators. *J Exp Med* 210: 1217-34
9. Egawa G, Nakamizo S, Natsuaki Y, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K. 2013. Intravital analysis of vascular permeability in mice using two-photon microscopy. *Sci Rep* 3: 1932
10. Nakahigashi K, Doi H, Otsuka A, Hirabayashi T, Murakami M, Urade Y, Zouboulis CC, Tanizaki H, Egawa G, Miyachi Y, Kabashima K. 2012. PGD2 induces eotaxin-3 via PPARgamma from sebocytes: a possible pathogenesis of eosinophilic pustular folliculitis. *J Allergy Clin Immunol* 129: 536-43
11. Hara-Chikuma M, Chikuma S, Sugiyama Y, Kabashima K, Verkman AS, Inoue S, Miyachi Y. 2012. Chemokine-dependent T cell migration requires aquaporin-3-mediated hydrogen peroxide uptake. *J Exp Med* 209: 1743-52
12. Busch J, Frank V, Bachmann N, Otsuka A, Oji V, Metze D, Shah K, Danda S,

Watzer B, Traupe H, Bolz HJ, Kabashima K, Bergmann C. 2012. Mutations in the prostaglandin transporter SLCO2A1 cause primary hypertrophic osteoarthropathy with digital clubbing. *J Invest Dermatol* 132: 2473-6

〔産業財産権〕
該当無し

取得状況（計 件）
該当無し

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~skin/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平成 24-26 年度

宮地良樹 (MIYACHI Yoshiki)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：30127146

平成 22,23 年度

椛島健治 (KABASHIMA Kenji)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：0036

(2) 研究分担者

本田哲也 (HONDA Tetsuya)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：40452338

鬼頭昭彦 (KITOH Akihiko)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：40508438