

令和元年6月6日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16328

研究課題名(和文) アンフィレグリンとSTAT3を軸にした痒疹の発症機序の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of prurigo: role of amphiregulin and STAT3

研究代表者

端本 宇志 (Hashimoto, Takashi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：00647844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者が作成した痒疹モデルマウスは好塩基球に依存するが、重要な成果として、好塩基球由来のアンフィレグリンが、痒疹モデルのみならず、アトピー性皮膚炎の炎症を増悪させていることを突き止めた。また、痒疹モデルマウスは痒みを伴うが、表皮でSTAT3を阻害すると、ヒスタミン誘発性の痒みが抑制されることも突き止めた。痒みには神経回路のセロトニンやアドレナリンが関わるが、セロトニン・ノルアドレナリン選択的作動性抗うつ薬が痒みとともに痒疹モデルマウスの炎症を抑えることも報告した。疥癬は痒疹を併発する感染症であるが、この痒みの原因として、M2マクロファージ由来のIL-31が関与していることも報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、罹患率の高い疾患である痒疹の免疫学的な発症機序の一旦を解明した。痒疹は好塩基球の浸潤を強く伴うが、好塩基球に由来するアンフィレグリンが炎症を増強させることを突き止めた。また、皮膚のSTAT3という物質が痒みに深く関与していることも判明した。さらに本研究では、アレルギーを生じている皮膚で産生されるTSLPとペリオスチンの刺激により、マクロファージが痒みを引き起こす物質IL-31を産生していることも明らかにした。この物質や、産生細胞である好塩基球をターゲットにすることで、痒疹や、その他の痒みを制御できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A murine model mouse of prurigo is depend on basophils. We reported that basophil-derived amphiregulin amplifies inflammation not only in a prurigo murine model but also in an atopic dermatitis model. We also found that STAT3 in epidermal keratinocytes regulate histaminergic itch via TRPV4. Serotonin and nor-adrenalin are involved in itch sensation in the nervous system. It has been revealed that selective serotonin and noradrenalin re-uptake inhibitors, which are used for depression treatment, can attenuate scratching behavior and inflammation in a murine prurigo model. Scabies features pruritus and is sometimes accompanied by prurigo lesions. Scabies itch is, at least partially, due to IL-31 from M2 macrophages in response to TSLP and periostin.

研究分野：皮膚科学

キーワード：痒疹 アトピー性皮膚炎 好塩基球 マクロファージ TSLP ペリオスチン かゆみ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

痒疹とは頻度の高い皮膚慢性アレルギー疾患の一つである。他者の視線を浴びやすい皮膚に症状が発現し、「痒み(そう痒)」という極めて不快な症状を伴うことから、生活の質のみならず労働生産性も極端に損われる。このため、発症機序の解明と治療方法の開発は、社会的にも重要である。しかしながら、病態は今まで不明であった。この原因の一つとして、適切なモデルマウスがないことがあげられる。そこで、研究代表者は、痒疹のモデルマウスを開発し、その発症機序に好塩基球と Th2 免疫応答、Th17 免疫応答が重要であることをすでに解明した。しかしながら、さらに詳しい病態解明は未だされていない。

アンフィレグリンは上皮成長因子様成長因子の一つである。皮膚では、表皮細胞や浸潤した免疫細胞を始め、様々な細胞から分泌される。これまで、好塩基球由来のアンフィレグリンがアレルギー性炎症に関わっているという報告が少数であるがなされていた。しかしながら、痒疹における好塩基球由来のアンフィレグリンの関与は不明であった。

2. 研究の目的

本研究課題では、痒疹の発症機序における、好塩基球由来のアンフィレグリンの役割を、モデルマウスを用いて明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 痒疹モデルマウスにおけるアンフィレグリンの役割の解明

痒疹モデルマウスにアンフィレグリン (AREG) 阻害目的に、AREG siRNA を投与して、炎症の程度を評価した。また、炎症をすでに惹起した病変部にマウスリコンビナント AREG を投与して、炎症がどの様に変化をするかを確認した。次いで、アンフィレグリンの産生細胞を免疫染色で確認した。好塩基球が実際に AREG を産生するかどうか、マウスの骨髓細胞から採取し、IL-3 あるいは TSLP で分化させた好塩基球 (BMBas) を用いて、IgE、IL-3、TSLP、IL-33 で刺激して AREG の産生を確認した。また、好塩基球由来の AREG が本当に痒疹モデルマウスの炎症に関わっているかどうか、ジフテリア毒素 (DT) 処理により好塩基球を除去したマウスに、AREG siRNA 処理をした好塩基球を移入して痒疹反応がどの様に変化するかを確認した。

(2) マクロファージにおける IL-31 発生機序の解明

痒疹を併発する疾患である疥癬の病変部で、免疫細胞の浸潤や IL-31 の発現を確認した。また、好塩基球とマクロファージが IL-31 の主要産生細胞であることが想定されたので、それらの細胞の増殖・分化に関わる物質の発現も免疫染色で確認した。さらに、マクロファージの IL-31 産生能を確認するため、マウスの腹腔マクロファージを採取し、Th2 免疫関連タンパクで刺激して、IL-31 の発現を確認した。

(3) SNRI 抗うつ薬の痒疹炎症抑制機序

選択的セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI) はヒトの痒疹を改善させる。そこで、痒疹モデルマウスをもちいて、SNRI の効果を確認した。痒疹モデルマウスに SNRI の一つであるデュロキセチンを投与し、炎症反応および搔破行動を確認した。

4. 研究成果

(1) 痒疹モデルマウスにおけるアンフィレグリンの役割の解明

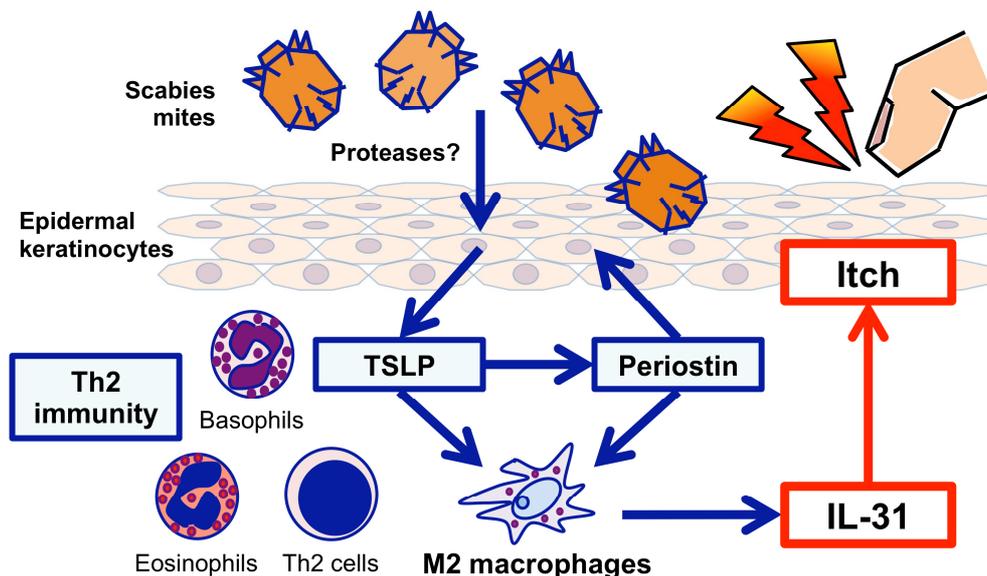
痒疹モデルマウスに AREG siRNA を投与すると、痒疹反応は部分的に減少した。また、病変部位では確かに AREG の産生量が低下していた。病理組織学的には、表皮肥厚の改善と真皮浸潤細胞の減少がみられた。また、リコンビナント AREG を投与すると、炎症反応の増強も確認された。しかしながら、健康皮膚にリコンビナント AREG を投与しても、炎症は増強しなかった。病変部を免疫染色で確認すると、TUG8 陽性好塩基球は AREG を発現していた。また、BMBas は IgE や IL-3、TSLP + IgE、IL-33 の刺激により AREG の mRNA の発現が増強した。DT 処理により好塩基球を枯渇させた遺伝子改変マウスでは痒疹炎症反応は減弱した。このマウスに AREG siRNA 処理をした野生型好塩基球を移入しても炎症は回復しないが、scramble siRNA 処理を施した好塩基球を移入すると、炎症は回復した。以上から、好塩基球由来のアンフィレグリンが痒疹反応の増悪因子として関与していることが確認された。

(2) マクロファージにおける IL-31 発生機序の解明

疥癬病変部では、IL-31 の発現が表皮、真皮ともに増強していた。真皮浸潤細胞のうち、マクロファージ、とくに M2 に分極したマクロファージが IL-31 の主たる産生細胞であった。また、病変部では CCR4 陽性 Th2 細胞が多数浸潤していた。また、好塩基球や好酸球といった Th2 免疫

に關与する細胞の浸潤も多数みられた。さらに、Th2 關連タンパクである TSLP やペリオスチンの発現も強く増強していた。そこで、マクロファージの IL-31 産生能を確認するために、マウスの腹腔内マクロファージを採取し、Th2 サイトカインである IL-4/13、TSLP、ペリオスチン、コントロールとして M1 マクロファージに分極させる IFN γ をそれぞれ加えて刺激した。IL-31 の産生は IFN γ や IL-4/13 では生じず、TSLP、ペリオスチンの刺激により増強した。また、TSLP とペリオスチンとの共刺激により、IL-31 の産生はさらに増強するとともに、M2 形質を有するようになった。これらのことから、疥癬の病変部では Th2 免疫応答が優勢であり、TSLP とペリオスチンの過発現により M2 マクロファージが形成され、IL-31 を産生する機序が解明された。

Pruritus in ordinary scabies: IL-31 from macrophages induced by overexpression of TSLP and periostin



(3) SNRI 抗うつ薬の痒疹炎症抑制機序

デュロキセチンを投与したマウスでは、炎症反応が減弱し、さらに搔破行動も減少した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 31 件)

1. Hashimoto T, Sakai K, Yosipovitch G, Akiyama T. Signal Transducer and Activator of Transcription 3 in Keratinocytes Regulates Histaminergic Itch but Not Nonhistaminergic Itch. *Acta Derm Venereol*. 2019 May 29;. doi: 10.2340/00015555-3229. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31141156.
2. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Pruritus in ordinary scabies: IL-31 from macrophages induced by overexpression of TSLP and periostin. *Allergy*. 2019 May 14;. doi: 10.1111/all.13870. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31087686.
3. Namiki T, Hashimoto T, Omigawa C, Fujimoto T, Ugajin T, Miura K, Satoh T, Nakano H, Yokozeki H. Case of generalized anhidrosis associated with diffuse reticular hyperpigmentation and syndactyly. *J Dermatol*. 2019 May;46(5):e154-e155. doi: 10.1111/1346-8138.14697. Epub 2018 Nov 16. PubMed PMID: 30447014.
4. Hashimoto T, Satoh T, Karasuyama H, Yokozeki H. Amphiregulin from basophils amplifies basophil-mediated chronic skin inflammation. *J Invest Dermatol*. 2019 Mar 13;. doi: 10.1016/j.jid.2019.02.023. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30878670.
5. Amano M, Namiki T, Munetsugu T, Nakamura M, Hashimoto T, Fujimoto T, Yokozeki H. Dyshidrosis associated with diabetes mellitus: Hypohidrosis associated with diabetic neuropathy and compensated hyperhidrosis. *J Dermatol*. 2019 Mar 12;. doi:

- 10.1111/1346-8138.14840. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30859595.
6. Nakamura M, Namiki T, Munetsugu T, Hashimoto T, Fujimoto T, Yokozeki H. Image Gallery: Acquired anhidrosis associated with alcohol-related peripheral neuropathy, a potential cause of anhidrosis due to reduced innervation of eccrine glands. *Br J Dermatol*. 2019 Feb;180(2):e35. doi: 10.1111/bjd.17247. PubMed PMID: 30714116.
 7. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Prurigo successfully treated with duloxetine hydrochloride. *Australas J Dermatol*. 2019 Jan 24;. doi: 10.1111/ajd.12996. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30675900.
 8. Namiki T, Nojima K, Hashimoto T, Hanafusa T, Tokoro S, Miura K, Tanaka M, Yokozeki H. Borst-Jadassohn phenomenon arising from a seborrheic keratosis and its characteristic dermoscopic features. *Clin Exp Dermatol*. 2018 Dec;43(8):940-941. doi: 10.1111/ced.13653. Epub 2018 Jun 11. PubMed PMID: 29888802.
 9. Hashimoto T, Namiki T, Wakasa T, Shimokata M, Yokozeki H. Dacryocystitis mimicking erysipelas due to a giant dacryolith. *J Dermatol*. 2018 Oct;45(10):e272-e274. doi: 10.1111/1346-8138.14317. Epub 2018 Apr 14. PubMed PMID: 29655289.

〔学会発表〕(計4件)

1. Hashimoto T, Christina Kursewicz, Sonali Nanda, Rachel Fayne, Serena Shah, Leigh Nattkemper, Hiroo Yokozeki, Gil Yosipovitch. Itch in stasis dermatitis: implications of IL-31 from macrophages in response to periostin, substance P, and hemosiderin. The 3rd annual Celia & Samuel Resnik Research Day. Miami, USA, June-2019. (Oral)
2. Hashimoto T, Christina Kursewicz, Rachel Fayne, Sonali Nanda, Serena Shah, Leigh Nattkemper, Hiroo Yokozeki, Gil Yosipovitch. Pathophysiology of itch in bullous pemphigoid. SID 2019 Annual Meeting. Chicago, USA, May-2017. (Concurrent)
3. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Pruritus in ordinary scabies: its immunological responses and IL-31 from macrophages under overexpression of TSLP and periostin. International Investigative Dermatology 2018. Orland, USA, May-2018. (Poster)
4. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Basophils release amphiregulin and may contribute to murine models of prurigo reaction and MC903-induced atopic dermatitis-like skin inflammation. SID 2017 Annual Meeting. Portland, USA, Apr-2017. (Poster)

〔図書〕(計1件)

1. Hashimoto T, Satoh T. Immunological Perspectives: Th2 cells/Mast cells/Basophils/Eosinophils. In Katayama I, Murota H, Satoh T. (eds) Evolution of Atopic Dermatitis in the 21st Century. pp69-82. Springer, Singapore.

6. 研究組織

該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。