

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08743

研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎・痒疹の痒み発生機序の解明：IL-31産生マクロファージの役割

研究課題名(英文) Mechanisms of itch in atopic dermatitis and prurigo: role of IL-31 from macrophages

研究代表者

端本 宇志 (Hashimoto, Takashi)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・病院 皮膚科・講師)

研究者番号：00647844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎や痒疹では痒みを伴う。その原因としてIL-31というアレルギー炎症に伴って出現する物質が重要な役割を果たしているが、その産生細胞については不明な点が多かった。本研究では、IL-31はT細胞に加えて、マクロファージも産生していることが判明した。動物モデルマウスでは、マクロファージを除去すると痒み行動が減弱する。IL-31シグナルを阻害しても痒み行動が減弱する。このことから、マクロファージ由来IL-31は痒みに関わっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IL-31の産生細胞ならびに産生メカニズムを解明することで、IL-31の産生を抑えることができる。また、IL-31が本当に痒みと関わっているか、ということ解明することで、IL-31が痒みの治療のターゲットとなることを証明できる。本研究では、免疫に必要なT細胞ではなく、マクロファージ、特にM2マクロファージが少なくとも部分的にはIL-31を産生していることを示した。マクロファージあるいはIL-31をターゲットとした治療方法を開発することで、

研究成果の概要(英文)：Itch is a major problem in atopic dermatitis and prurigo. IL-31, which is a cytokine produced under allergic inflammation, plays a role in itch, but their cellular origins are still uncertain. The current study revealed that IL-31 comes from not only T cells but also macrophages. In animal models, macrophage depletion resulted in attenuation of scratching behavior. In addition, blockade of IL-31 signaling improved scratching behavior. IL-31 from macrophages appears to play a role in itch of atopic dermatitis and prurigo.

研究分野：皮膚科

キーワード：痒み アトピー性皮膚炎 痒疹 マクロファージ IL-31

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎や痒疹を代表とする慢性皮膚アレルギー疾患では、「痒み」という極めて深い感覚を伴う。痒みは生活の質 (QOL) のみならず、労働生産性も著しく低下させる。このため、痒みの発症機序の解明と治療方法の開発は社会的にも急務である。

痒みは皮膚で産生された原因物質 (起痒物質) が末梢感覚神経を刺激することにより生じる。代表的な起痒物質にヒスタミンがあるが、慢性皮膚アレルギー疾患では非ヒスタミン依存性の痒みが主体である。その中でも、IL-31 が痒みに重要な役割を果たしており、治療のターゲットともなっている。IL-31 は主として Th2 細胞から産生されるが、近年ではマクロファージも IL-31 を産生すると報告されている。ただし、マクロファージ由来の IL-31 の産生機序や痒みへの関与は未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究においては、「慢性皮膚アレルギー疾患の痒みの主要因の一つはマクロファージ由来の IL-31 である」という仮説を立てた。そこで本研究では、アトピー性皮膚炎と痒疹に焦点を絞り、マクロファージの IL-31 酸性機構を解明し、実際の痒みへの関与を確認することを目的とした。実際の研究にあたっては、

- (1) アトピー性皮膚炎および痒疹のモデルマウスを用いたマクロファージの IL-31 産生能の確認
- (2) 上記モデルマウスを用いたマクロファージ由来の IL-31 の痒み惹起能の確認
- (3) ヒトのアトピー性皮膚炎および痒疹におけるマクロファージの IL-31 産生能および産生促進因子の確認

の3つの目標を設定した。

3. 研究の方法

(1) アトピー性皮膚炎および痒疹のモデルマウスを用いたマクロファージの IL-31 産生能の確認

アトピー性皮膚炎モデルマウスとして、Vit. D3 誘導体 MC903 を皮膚に連日塗布してアトピー性皮膚炎類似炎症反応を惹起する MC903 モデルと、ダニ由来プロテアーゼを連日塗布して皮膚炎を惹起させるプロテアーゼモデルを使用した。

痒疹モデルマウスとして、外因性に抗原特異的 IgE を投与し、抗原を反復投与して痒疹類似病変を惹起する痒疹モデルマウスを用いた。

これらモデルマウスが本当に痒いのかを、マウスの搔破行動で確認した。さらに、病変部の IL-31 発現を qPCR 法と ELISA 法で確認し、IL-31 産生細胞がマクロファージであるかを蛍光抗体染色法およびフローサイトメトリーで確認する。

(2) 上記モデルマウスを用いたマクロファージ由来の IL-31 の痒み惹起能の確認

上述のモデルマウスに IL-31 受容体である IL-31RA に対する抗体を投与し、IL-31 が痒みを誘導するかを確認する。さらに、マクロファージ除去薬クロドロン酸リポソームをモデルマウスに投与し、病変部の IL-31 発現細胞や搔破行動が減少するかを確認する。

(3) ヒトのアトピー性皮膚炎および痒疹におけるマクロファージの IL-31 産生能および産生促進因子の確認

人のアトピー性皮膚炎の病変でも、IL-31 産生細胞が増加しているか、それらはマクロファージであるか、を確認する。また、マクロファージからの IL-31 発現を増強する因子として、TSLP やペリオスチン、好塩基球などが知られている。これらの病変部での発現がマクロファージからの IL-31 発現に影響を与えているかどうかを確認する。

4. 研究成果

(1) アトピー性皮膚炎および痒疹のモデルマウスを用いたマクロファージの IL-31 産生能の確認

MC903 モデルでは病変部に対する搔破行動がコントロールマウスと比較して増強していた。さらに、病変部の IL-31 の mRNA の発現がコントロールマウスと比較して増強していた。蛍光染色で確認したところ、病変部真皮には IL-31 発現細胞が多数浸潤しており、これら IL-31 発現細胞を二重染色で確認したところ、MOMA-2 を発現するマクロファージであることが判明した。また、フローサイトメトリーでマクロファージ形質を確認したところ、Arg1 陽性であり、M2 マクロファージが IL-31 を産生していることが判明した。病変部の mRNA qPCR でも、マクロファージ関連物質 Iba1 と Arg1 の発現が増強し、M1 マクロファージマーカーである iNOS の発現が低下していたことも、M2 マクロファージが主体となり IL-31 を産生していることを示唆する。

なお、プロテアーゼモデルにおいても、真皮に MOMA-2 陽性マクロファージが多数浸潤しており、MOMA-2 陽性細胞が IL-31 を発現していることが蛍光染色で確認された。さらに、フローサイトメトリーでも、MC903 モデルと同様に Arg1 陽性 MOMA-2 陽性細胞が IL-31 を発現していた。痒疹モデルマウスでも、M2 マクロファージの減少にともなって IL-31 発現も減少することが確認された。以上から、M2 マクロファージが IL-31 の産生源となることが示唆された。

(2) 上記モデルマウスを用いたマクロファージ由来の IL-31 の痒み惹起能の確認

MC903 モデルの病変部に IL-31RA 阻害抗体を投与すると、搔破行動が減弱したことから、IL-31 が痒みに関与していることが示唆された。さらに、マクロファージ除去薬であるクロドロン酸リポソームを MC903 に投与したところ、マクロファージが除去されたとともにマウスの搔破回数も減弱した。また、蛍光抗体法で確認したところ、IL-31 陽性 MOMA-2 陽性細胞数も減弱していた。以上から、マクロファージ由来の IL-31 が搔破行動に重要な役割を果たしていることが示唆された。

(3) ヒトのアトピー性皮膚炎および痒疹におけるマクロファージの IL-31 産生能および産生促進因子の確認

ヒトのアトピー性皮膚炎病変部においても同様の所見が得られるかを確認した。申請者の所属する施設での倫理委員会での許諾が得られたのちに、アトピー性皮膚炎患者から採取された病変部皮膚生検サンプルを用いて検討を加えた。病変部では健常コントロールと比べて IL-31 陽性細胞が多数浸潤していた。二重蛍光染色で検討を加えると、IL-31 陽性細胞の一定数は CD68 を発現しており、マクロファージであることが考えられた。さらに、CD68 陽性細胞は M2 マクロファージマーカーである CD163 を発現しており、ヒトでも M2 マクロファージが IL-31 を少なくとも部分的には産生していることが示唆された。

IL-31 発現 CD68 陽性マクロファージ数がどのような因子と相関しているかを検討したところ、表皮 TSLP、真皮ペリオスチンの発現量が統計学的に有意に相関していることが判明した。また、真皮好酸球数とも有意に相関していることが判明した。

上記をもとに、モデルマウスにおいて TSLP やペリオスチンの関与を確認した。TSLP 中和抗体やペリオスチン受容体抗体を投与したところ、マウスの搔破行動は減少したが、IL-31 の有意な減少には至らなかった。好塩基球の関与については、現在検討を行なっている。

上記の得られた成果は、学会などで報告するとともに、学術雑誌に論文を投稿している。アトピー性皮膚炎や痒疹においてマクロファージが IL-31 の産生に重要な役割を果たすことは今まで知られておらず、これらの因子を制御することにより、アトピー性皮膚炎や痒疹のつらい痒みが改善することになれば、患者の QOL も回復するとともに、社会生産性をも向上させることから、社会に与える影響は極めて大きい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 8件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Awatani Kayo, Hashimoto Takashi, Satoh Takahiro	4. 巻 48
2. 論文標題 Eruptive pruritic papular porokeratosis accompanied by eosinophilic and basophilic infiltrate with upregulation of epidermal CCL26/eotaxin 3 and thymic stromal lymphopoietin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e382 ~ e383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15949	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto Takashi, Moriyama Yoshihiro, Satoh Takahiro	4. 巻 31
2. 論文標題 Linear porokeratosis with severe itch accompanied by lesional upregulation of interleukin 31, thymic stromal lymphopoietin, and periostin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 570 ~ 572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1684/ejd.2021.4083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto Takashi, Mishra Santosh K., Olivry Thierry, Yosipovitch Gil	4. 巻 141
2. 論文標題 Periostin, an Emerging Player in Itch Sensation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 2338 ~ 2343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.03.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hashimoto Takashi, Nattkemper Leigh A., Kim Hei Sung, Kursewicz Christina D., Fowler Emilie, Shah Serena M., Nanda Sonali, Fayne Rachel A., Paolini John F., Romanelli Paolo, Yosipovitch Gil	4. 巻 -
2. 論文標題 Itch intensity in prurigo nodularis is closely related to dermal interleukin 31, oncostatin M, IL 31 receptor alpha and oncostatin M receptor beta	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.14279	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto T, Nattkemper L, Kim H, Kursewicz C, Fowler E, Shah S, Nanda S, Fayne R, Romanelli P, Yosipovitch G	4. 巻 101
2. 論文標題 Dermal Perioestin: A New Player in Itch of Prurigo Nodularis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Dermato Venereologica	6. 最初と最後の頁 adv00375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2340/00015555-3702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Kursewicz Christina Dorothy, Fayne Rachel Alison, Nanda Sonali, Shah Serena Maya, Nattkemper Leigh, Yokozeki Hiroo, Yosipovitch Gil	4. 巻 140
2. 論文標題 Mechanisms of Itch in Stasis Dermatitis: Significant Role of IL-31 from Macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 850 ~ 859.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2019.09.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Yosipovitch Gil	4. 巻 28
2. 論文標題 Itchy body: Topographical difference of itch and scratching and C Nerve fibres	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1385 ~ 1389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.14054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Rosen Jordan D., Sanders Kristen M., Yosipovitch Gil	4. 巻 28
2. 論文標題 Possible roles of basophils in chronic itch	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1373 ~ 1379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.13705	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Leon Argentina, Rosen Jordan D., Hashimoto Takashi, Fostini Anna C., Paus Ralf, Yosipovitch Gil	4. 巻 28
2. 論文標題 Itching for an answer: A review of potential mechanisms of scalp itch in psoriasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1397 ~ 1404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/exd.13947	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Satoh Takahiro, Yokozeke Hiroo	4. 巻 74
2. 論文標題 Pruritus in ordinary scabies: IL 31 from macrophages induced by overexpression of thymic stromal lymphopoietin and periostin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 1727 ~ 1737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13870	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Satoh Takahiro, Yokozeke Hiroo	4. 巻 60
2. 論文標題 Prurigo successfully treated with duloxetine hydrochloride	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Australasian Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 237 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ajd.12996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Takashi, Yosipovitch Gil	4. 巻 144
2. 論文標題 Itching as a systemic disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 375 ~ 380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.04.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Takashi Hashimoto, Takahiro Satoh
2. 発表標題 IL-31, a major pruritogen in a mouse model of atopic dermatitis, is generated through the macrophage/TSLP/periostin axis
3. 学会等名 46th Japanese Society for Investigative Dermatology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hashimoto T, Satoh T.
2. 発表標題 IL-31, a major pruritogen in a mouse model of atopic dermatitis, is generated through the macrophage/TSLP/periostin axis.
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of the JSID. (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 端本宇志
2. 発表標題 SY1-2アトピー性皮膚炎の痒み
3. 学会等名 第85回日本皮膚科学会東京支部学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 端本宇志
2. 発表標題 痒疹の痒み 痒み発生機序の最新の知見と対処法
3. 学会等名 第120回日本皮膚科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Hashimoto, Hiroo Yokozeki, Takahiro Satoh
2. 発表標題 Macrophages are the major cellular sources of IL-31 in atopic dermatitis: a novel network of itch comprising TSLP, periostin, and basophils
3. 学会等名 45th Japanese Society for Investigative Dermatology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takashi Hashimoto, Takahiro Satoh
2. 発表標題 Implications of dermal IL-31 from M2 macrophages in itch in murine models of atopic dermatitis
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress in 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takashi Hashimoto, Takahiro Satoh, Hiroo Yokozeki
2. 発表標題 Overexpression of dermal IL-31 generated by M2 macrophages and itch in murine models of atopic dermatitis
3. 学会等名 10th World Congress of Itch (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hashimoto, Christina Dorothy Kursewicz, Rachel Alison Fayne, Sonali Nanda, Serena Maya Shah,
2. 発表標題 Mechanisms of itch in stasis dermatitis: Significant role of IL-31 from macrophages.
3. 学会等名 10th World Congress of Itch (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Miami Itch Center, University of Miami		