

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08750

研究課題名（和文）OSMR の機能異常からみる皮膚そう痒の新規機序

研究課題名（英文）A new mechanism of skin pruritus due to dysfunction of OSMR

研究代表者

田中 暁生（Tanaka, Akio）

広島大学・医系科学研究科（医）・准教授

研究者番号：70714088

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、OSM（オンコスタチンM）やIL（インターロイキン）-31の受容体を構成するOSMR（オンコスタチンM受容体）が関与する痒みの機序を明らかにすることを目的とした。OSM刺激によって表皮角化細胞と後根神経節では、いくつかの痒みに関連する受容体の発現量が変化した。マウスを用いたin vivoの検討を行い、OSMがある特定のサイトカインの受容体の発現を抑制して、そのリガンドによる痒みを減弱させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によってOSMおよびOSMRが、痒み刺激の制御に関与していることが明らかとなった。痒みの治療薬として抗ヒスタミン薬が古くから存在し、最近ではIL-31刺激をブロックするIL31RAに対するモノクローナル抗体（Nemolizumab）がアトピー性皮膚炎の痒みに対する治療薬として開発が進んでいる。本研究結果によって、OSMRを刺激または調節することによって痒みを制御することが可能であることが明らかになり、痒みに対する効果的な治療薬の開発につながる事が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to determine the mechanism of pruritus involving OSMR (Oncostatin M receptor beta), which constitutes a receptor for OSM (Oncostatin M) and IL (interleukin)-31. OSM stimulation altered the expression of several itch-related receptors in epidermal keratinocytes and dorsal root ganglia. In vivo studies in mice showed that OSM suppresses the expression of receptors for certain cytokines and attenuates itch caused by their ligands.

研究分野：皮膚科学

キーワード：痒み OSMR 限局性皮膚アミロイドーシス

## 1. 研究開始当初の背景

そう痒は皮膚疾患に広く共通する不快な症状である。そう痒は、マスト細胞からのヒスタミンに加え、表皮角化細胞が産生するセロトニン、インターロイキン(IL)、Thymic Stromal Lymphopoietin(TSLP)などが皮膚の C 線維神経終末を刺激し、後根神経節(DRG: dorsal root ganglion)を介して脊髄後角から中枢神経系にシグナルが伝わり、脳で痒みとして認識される(Dong X, et al. *Neuron.*;98:482-494,2018)。このように、そう痒を誘発する表皮内あるいは真皮内の因子がすでいくつか報告され、その伝達経路も明らかにされつつあるものの、生物がそう痒を感じる具体的な機序についてはまだまだ不明な点が多く、臨床現場でのそう痒の制御を困難にしている。

そう痒を主症状とする遺伝性皮膚疾患に家族性限局性皮膚アミロイドーシス(familial primary localized cutaneous amyloidosis : FPLCA)がある。FPLCA は幼少時から持続するそう痒と、掻破による表皮直下のアミロイド沈着を特徴とする疾患で、我々は OSMR $\beta$  (オンコスタチン M 受容体) の遺伝子である OSMR 変異が原因であることを明らかにしてきた (Tanaka A, et al. *Br J Dermatol.* 161:1217-24,2009.)。

OSMR $\beta$  は、IL-6 型サイトカインである OSM (オンコスタチン M) や IL-31 の受容体を形成し、DRG、角化細胞、線維芽細胞などの細胞に発現している。IL-31 は皮膚にそう痒を引き起こすサイトカインであり、このような背景から、FPLCA で見られる強いそう痒は OSMR $\beta$  の遺伝子異常が関与していることが示唆されている。Arita らは、FPLCA 患者一人 (mutant OSMR-p.G618A) の角化細胞と健常人一人の角化細胞を比較して、患者角化細胞の方が OSMR $\beta$  の下流のシグナルである STAT1,3,5、Erk、Akt のリン酸化が減弱したことを報告した (Arita K, et al. *AM J Hum Gen.*82:73-80,2008)。その不偏性を確認するために、我々は (mutant OSMR-p.G618A) 患者に別の患者 (mutant OSMR-p.P694L) も加えて、複数の健常人から採取した角化細胞と、さらには線維芽細胞も用いて同様の検討を行ったが、リン酸化の程度は細胞の個体差が大きく、必ずしも変異受容体の下流のシグナルが減弱するとは言えなかった。STAT1,3,5、Erk、Akt のリン酸化は細胞内の他の因子の影響を受ける可能性がある。そもそも OSMR $\beta$  の受容体としての機能不全のみでは、IL-31 刺激の減弱ということになり、変異によるそう痒の惹起の説明にはならない。このように、現在のところ OSMR 変異によって引き起こされる事象については不明であり、OSMR 変異の細胞機能への影響を検討するためには、OSMR $\beta$  以外の背景を同じにする必要がある。

IL-31 の受容体は OSMR $\beta$  と IL31RA のヘテロダイマーで構成され、IL31RA に対するモノクローナル抗体がアトピー性皮膚炎のそう痒に対する治療薬として研究が進められている (Kabashima K, *J Allergy Clin Immunol.*;142:1121-1130,2018)。しかし、IL-31 が直接的に DRG の C 線維を刺激してそう痒を生じるのか、OSMR $\beta$  を発現している表皮角化細胞などを介して間接的にそう痒が引き起こされるのか、さらには IL-31 による直接的な刺激と間接的な刺激による DRG の反応性はどのように違うのかなど、IL-31 によって引き起こされるそう痒の機序はほとんどわかっていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、OSM や IL-31 の受容体を構成する OSMR $\beta$  が関与するそう痒の機序を明らかにする。

OSMR $\beta$  をコードする OSMR 遺伝子は、皮膚のそう痒を主症状とする家族性限局性皮膚アミロイドーシスの原因遺伝子であり、その変異によって起こる OSMR $\beta$  の機能異常が、皮膚のそう痒に関与していると考えられている。本研究では、OSMR $\beta$  刺激によって引き起こされる表皮角化細胞と後根神経節の細胞内シグナル伝達を解析し、それによって引き起こされるそう痒の機序を明らかにする。その結果、IL-31 が関与するそう痒発生機序の解明の第一歩となるのみならず、そう痒に対する治療標的がより明確になり、効果的で副作用の少ない新薬の開発につながることを期待される。

## 3. 研究の方法

### 1) ヒト表皮角化細胞株における変異 OSMR の機能解析

FPLCA 患者 2 家系 (OSMR-p.G618A、p.P694L) と同一の OSMR 変異をもつ 2 種類のプラスミドベクターを作成し、HaCaT 細胞にそれぞれのプラスミドベクターを遺伝子導入した。

遺伝子導入した OSMR 変異 HaCaT 細胞を OSM や IL31 で刺激した。

刺激後に細胞を回収し、OSMR の下流のシグナルのリン酸化 STAT3、STAT1、STAT5、Erk1/2、Akt などのリン酸化を Western blot 法にて確認した。

さらに RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行い、OSMR 変異 HaCaT 細胞が産生するサイトカインなど、そう痒に関連する可能性のある分子について確認をし、その後の研究のターゲット分子とした。

- 2) マウス DRG 細胞における IL-31, OSM 刺激による細胞機能の解析  
DRG 細胞を OSM や IL-31 で刺激した。  
15 分の刺激後に細胞を回収し、OSMR の下流のシグナルのリン酸化 STAT3, STAT1, STAT5, Erk1/2, Akt などのリン酸化を Western blot 法にて確認した。  
刺激による細胞内へのカルシウム流入を Ca<sup>2+</sup> 蛍光プローブを用いて、経時的に観察した。  
さらに RNA を抽出し、そう痒に関連する受容体の発現などを検索した。
- 3) in vivo におけるそう痒に対する OSM の影響の解析  
マウスに OSM を尾静脈から経静脈的に投与を行った。  
その後ヒスタミン、セロトニン、IL-31 などの起痒物質を皮下投与した。  
また、マウスの DRG を採取し in vivo における OSM による DRG の各種受容体の発現への影響を調べた。

#### 4. 研究成果

- 1) ヒト表皮角化細胞株における変異 OSMR の機能解析  
FPLCA 患者 2 家系 (OSMR-p.G618A, p.P694L) と同一の OSMR 遺伝子変異をもつ 2 種類のプラスミドベクターを作成し、OSMR 異常によって引き起こされる表皮角化細胞と後根神経節の細胞内シグナル伝達の異常を解析したが、それによる JAK-STAT 経路や ERK MAP キナーゼ経路への影響はウエスタンブロッティング法では見出すことができなかった。しかし、変異 OSMR 遺伝子を遺伝子導入した表皮角化細胞株 (HaCaT) では、炎症系のケモカインである CCL2 の発現が増加していた。CCL2 の増加とそう痒の関連は未だ明らかではないが、OSMR 遺伝子異常によって、OSM に対する細胞応答に変化を生じることが明らかとなった。
- 2) マウス DRG 細胞における IL-31, OSM 刺激による細胞機能の解析  
後根神経節細胞ともに OSM 刺激によってそう痒に関連する受容体の発現量が減少あるいは増加することを明らかにした。この結果より、OSM が起痒物質に対する過敏性に影響を与える可能性がある。
- 3) in vivo におけるそう痒に対する OSM の影響の解析  
マウスに OSM を経尾静脈的に全身投与することによって、in vivo においても OSM が DEG の痒み関連受容体の発現に増加または減少させることが明らかとなった。現在は、その受容体の発現の変化とそう痒の関連について検証をするためにマウスに OSM を事前投与し、ヒスタミン、セロトニン、IL-31 などの起痒物質に対するそう破行動への影響を調べている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------