

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08767

研究課題名(和文)好塩基球を標的とした難治性皮膚疾患、難治性そう痒症の病態解析と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis of the pathogenesis of pruritic skin diseases and pruritus focusing on basophils

研究代表者

横関 博雄 (YOKOEKI, HIROO)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・特任教授

研究者番号：90210608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：感作中抗原摂取群ではコントロール群に比べて直腸温低下が減弱したが、感作前接種群はコントロール群と変わらなかった。血清中mMCP-1は、感作中摂取群でコントロール群に比べて減少した。耳介皮膚における肥満細胞の脱顆粒や、感作部への好塩基球の浸潤は、感作中摂取群、感作前摂取群で、コントロール群に比べて軽減された。また、血清中OVA特異的IgE抗体価は、感作中摂取群・感作前摂取群で、コントロール群に比べて減少した。腸間膜リンパ節におけるTregの誘導をFoxp3mRNA発現で検討したが、感作前投与群と感作中投与群では、コントロール群に比べて増強していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規治療法を開発し、抗IgE抗体を用いた臨床研究を痒疹、食物アレルギー患者に試みていく。

研究成果の概要(英文)：Anaphylaxis due to transdermal sensitization of protein antigens, such as wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis due to percutaneous sensitization of hydrolyzed wheat, has become a social problem. This year, we analyzed the mechanism of immunotherapy by oral inoculation of food anaphylactic.

研究分野：免疫アレルギー

キーワード：contact dermatitis prurigo Food allergy basophil contact dermatitis atopic dermatitis s tat6 Zn

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

難治性皮膚疾患である慢性痒疹、アトピー性皮膚炎の痒疹結節部ならびに経皮感作食物依存性アナフィラキシーの発症機序の解析と新規治療法を開発する。好塩基球の活性化に亜鉛が関与しているかマウス、ヒト好塩基球を調整して FcεRI を介した刺激を加え細胞内の亜鉛濃度を測定するとともに亜鉛トランスポーター、メタルチオネイン (MT) の発現を遺伝子、蛋白レベルで確認する。難治性皮膚疾患モデルマウスを用いて特に亜鉛トランスポーター欠損マウス、MT 欠損マウス、好塩基球欠損マウスに難治性皮膚疾患のモデルマウスを誘導しワイルドタイプを比較検討して皮膚疾患誘導に重要な役割を果たすか検討するとともに新規治療法を開発する。

### 2. 研究の目的

難治性皮膚疾患である慢性痒疹(多型慢性痒疹、結節性痒疹)、アトピー性皮膚炎の痒疹結節部、皮膚そう痒症ならびに経皮感作食物依存性アナフィラキシーの発症機序の解析と新規治療法を開発するためにマウスモデルを樹立し新規治療法を開発する。さらに、我々は好塩基球の活性化に亜鉛が関与していることをマウス、ヒト好塩基球を調整して FcεRI を介した刺激を加え細胞内の亜鉛濃度を測定するとともに亜鉛トランスポーター、メタルチオネイン (MT) の発現を遺伝子、蛋白レベルで解析した。難治性皮膚疾患モデルマウスを用いて特に亜鉛トランスポーター欠損マウス、MT 欠損マウス、プロスタグランジン D2 欠損マウス、CRTH2 欠損マウス、好塩基球欠損マウスに難治性皮膚疾患のモデルマウスを誘導しワイルドタイプを比較検討して皮膚疾患誘導に重要な役割を果たすか検討するとともに亜鉛を用いた新規治療法を開発する。

### 3. 研究の方法

平成31年度事業:(1) 抗原特異的 IgE 遺伝子導入マウスを用いたモデルマウスによる痒疹の病態: 抗原特異的 IgE 導入マウスもしくは抗 DNPIgE 抗体を用いて痒疹モデルマウスを作製した。このモデルマウスを用いて発症機序、痒疹反応との相違などに関して検討する。また、亜鉛トランスポーター欠損マウス、MT 欠損マウス、STAT6 欠損マウス、好塩基球欠損マウスに痒疹モデルマウスを誘導して病態を解析し新規治療法を開発する。さらに、好塩基球に特異的モノクローナル抗体を用いて新規治療法を開発。すでに、好塩基球特異的モノクローナル抗体を作成しているため、これらの抗体による新規治療法の可能性を検討(Ugajin T, J Leukoc Biol, 2009, Hashimoto T, J Immunol, 2015)。

令和2年度事業:(2) 経皮感作食物依存性アナフィラキシーモデルマウスを用いた病態解析: 当研究室では OVA をパッチテストチェンバーで1週間貼付後2週間ごとに3回貼付することを繰り返し後、50mgOVA の経口投与することによりアナフィラキシー反応を誘導するモデルマウスを作成した。この実験系を用いて肥満細胞、好塩基球の役割を解析した。アナフィラキシーを起こした腸管では肥満細胞、好塩基球ともに増加していることも明らかにしている(Yu R, Exp Derm, 2017)。このモデルを用いて抗 IgE 抗体、亜鉛の有用性を検討する。また OVA を経口摂取することにより脱感作可能か検討。さらにそのメカニズムも解析する。

令和3年度事業:(3) 塩基球の活性化機序の解析: メタロチオネイン (MT) の役割解析: 本研究では、亜鉛シグナルによる好塩基球の IL-4 産生の制御機構を解析する。マウス好塩基球は、IgE/Ag 刺激後に亜鉛結合タンパクであるメタロチオネイン (MT) の発現が誘導された。そこで、MT 欠損マウス由来の好塩基球を用い、IgE/Ag 依存性の IL-4 産生をリアルタイム PCR や ELISA により検討したところ、野生型に比べて減弱した。

MT 欠損マウスにおける細胞内亜鉛濃度を、Newport Green アッセイにて測定すると、野生型に比べて上昇が見られ、さらに細胞内亜鉛濃度の上昇は、好塩基球の IL-4 産生に関与するシグナル分子の活性を抑制していた。ヒトの末梢血より好塩基球を分離し、リアルタイム PCR にて MT と IL4 の発現を検討したところ、両者の発現に高い正の相関がみられた。以上の結果より、マウスおよびヒト好塩基球において、MT が IL-4 産生を制御していることを明らかにした(Ugajin T,

Mol Immunol, 2014)。今後、好塩基球の MT を標的とした痒疹、アナフィラキシーなど難治性疾患の新規治療法開発を目指す。

#### 4 . 研究成果

加水分解小麦の経皮感作による小麦依存性運動誘発性アナフィラキシーなど蛋白抗原の経皮感作によるアナフィラキシーが社会問題になっている。今年度は食物アナフィラキシーを抗原の経口接種による免疫療法のメカニズムを解析した。

当教室で樹立した経皮感作型食物アレルギーのモデルマウスを用い、感作の前後で抗原を経口摂取することで、アレルギーの発症が予防・治療できるかどうかを検証した。

モデルマウスでは、1 週間の経皮感作 (OVA : ovalbumin) を 2 週間間隔で 3 回行い、その後 OVA を経口チャレンジするとアナフィラキシー様の直腸温低下が起こる。経皮感作前に OVA を 1 週間経口摂取する群、経皮感作中に OVA を継続的に経口摂取する群、抗原を経口摂取しない群 (コントロール群) で、OVA の経口チャレンジ後の直腸温低下を比較検討した。腸管・皮膚肥満細胞の脱顆粒を病理組織染色にて比較した。また、血中 OVA 特異的 IgE 値、IgG 値を ELISA 法にて測定した。リンパ組織の Foxp3 と IL-4 の転写誘導について qPCR 法にて解析した。

感作中抗原摂取群ではコントロール群に比べて直腸温低下が減弱したが、感作前接種群はコントロール群と変わらなかった。血清中 mMCP-1 は、感作中摂取群でコントロール群に比べて減少した。耳介皮膚における肥満細胞の脱顆粒や、感作部への好塩基球の浸潤は、感作中摂取群、感作前摂取群で、コントロール群に比べて軽減された。また、血清中 OVA 特異的 IgE 抗体価は、感作中摂取群・感作前摂取群で、コントロール群に比べて減少した。腸間膜リンパ節における Treg の誘導を Foxp3 mRNA 発現で検討したが、感作前投与群と感作中投与群では、コントロール群に比べて増強していた。

さらに多形慢性痒疹の好塩基球の役割を解析するため抗 IgE 抗体であるオマリズマブを投与する臨床研究を試みて有用性が確認された。

#### 【雑誌論文】

1. Mori Y, Ugajin T, Okada K, Handa Y, Umemoto N, Iijima H, Igawa K, Yokozeki H. Epicutaneously sensitized food-induced anaphylaxis is ameliorated with "oral tolerance" to antigen. *Exp Dermatol*. 2021; 30:367-376
2. Inui K, Ugajin T, Namiki T, Yokozeki H. Chronic prurigo: A retrospective study of 168 cases. *J Dermatol*. 2020 Mar;47(3):283-289. doi: 10.1111/1346-8138.15212. Epub 2020 Jan 6.
3. Chinuki Y, Yagami A, Adachi A, Matsunaga K, Ugajin T, Yokozeki H, Hayashi M, Katayama I, Kohno K, Shiwaku K, Morita E. In vitro basophil activation is reduced by short-term omalizumab treatment in hydrolyzed wheat protein allergy. *Allergol Int*. 2020 Apr;69(2):284-286. doi: 10.1016/j.alit.2019.09.006. Epub 2019 Nov 18.
4. Ugajin T, Yokozeki H. Efficacy of anti immunoglobulin E therapy in patients with prurigo: A pilot study. *J Cutan Immunol Allergy*, 2019;2:75-81

#### 【学会発表】

1. 宇賀神 つかさ(東京医科歯科大学 皮膚科), 横関 博雄:痒疹のメカニズムに基づいたピンポイントな治療法の開発. 第 118 回日本皮膚科学会総会 2019.6.6-9 名古屋市

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mori Y, Ugajin T, Okada K, Handa Y, Umemoto N, Iijima H, Igawa K, Yokozeki H.	4. 巻 30(3)
2. 論文標題 Epicutaneously sensitized food-induced anaphylaxis is ameliorated with "oral tolerance" to antigen.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Exp Dermatol.	6. 最初と最後の頁 367-376
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/exd.14216.	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 Ugajin T, Kobayashi Y, Takayama K, Yokozeki H.	4. 巻 S1323-8930(21)
2. 論文標題 A parvalbumin allergy case was successfully treated with oral immunotherapy using hypoallergenic fish.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 40-X
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2021.03.003.	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 Inui K, Ugajin T, Namiki T, Yokozeki H.	4. 巻 47(3)
2. 論文標題 Chronic prurigo: A retrospective study of 168 cases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 283-289
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.15212.	査読の有無 無
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 Chinuki Y, Yagami A, Adachi A, Matsunaga K, Ugajin T, Yokozeki H, Hayashi M, Katayama I, Kohno K, Shiwaku K, Morita E.	4. 巻 69(2)
2. 論文標題 In vitro basophil activation is reduced by short-term omalizumab treatment in hydrolyzed wheat protein allergy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 284-286
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2019.09.006.	査読の有無 無
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 Ugajin T, Yokozeki H.	4. 巻 2
2. 論文標題 Efficacy of anti immunoglobulin E therapy in patients with prurigo: A pilot study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Cutan Immunol Allergy	6. 最初と最後の頁 75-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Shibama S, Ugajin T, Yamaguchi T, Yokozeki H.	4. 巻 44
2. 論文標題 Bilirubin oxidation derived from oxidative stress is associated with disease severity of atopic dermatitis in adults.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Exp Dermatol.	6. 最初と最後の頁 153-160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ced.13674.	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 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 宇賀神 つかさ, 横関 博雄
2. 発表標題 痒疹のメカニズムに基づいたピンポイントな治療法の開発.
3. 学会等名 第118回日本皮膚科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宇賀神 つかさ
2. 発表標題 慢性痒疹における好塩基球の役割について最新の知見.
3. 学会等名 第118回日本皮膚科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野老 翔雲, 宇賀神 つかさ, 並木 剛, 横関 博雄
2. 発表標題 痒疹型アトピー性皮膚炎に対するDupilumabの有効性についての検討.
3. 学会等名 第49回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 有加利, 岡田 康平, 宇賀神 つかさ, 横関 博雄
2. 発表標題 動物モデル3: その他のアレルギー疾患 経皮感作型食物アレルギーマウスモデルにおける経口免疫寛容誘導の検討.
3. 学会等名 第68回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯田 忠恒, 吉岡 勇輔, 内田 千恵, 宇賀神 つかさ, 横関 博雄
2. 発表標題 ウマアレルギーと多種の食物アレルギーを併発した1例.
3. 学会等名 第884回日本皮膚科学会東京地方会
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
研究分担者	宇賀神 つかさ  (UGAJIN TSUKASA)  (40581327)	東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師   (12602)	

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
---------	---------