

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08887

研究課題名(和文)好中球性炎症におけるドーパミンシグナルの解析とその応用

研究課題名(英文)Analysis of dopamine signals in neutrophil inflammation and its application

研究代表者

松下 祥(Sho, Matsushita)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：50167649

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)：免疫担当細胞におけるドーパミン(DA)の作用を解明し以下の成果をあげた。IL-21の発現制御機構 樹状細胞(DC)に発現するFc RIシグナルがTh1を誘導する DCが産生するAChがTh1を誘導する DAシグナルはヒトTh1/17にIL-8を誘導する ダイアジノンによるセロトニン受容体刺激は抗原提示細胞からIL-8を誘導する DAシグナルは獲得免疫だけではなく自然免疫におけるサイトカイン産生も制御している TAはD2様受容体アゴニストであり潰瘍性大腸炎モデルを軽快させる TAは乾癬、歯周病、アトピー性皮膚炎モデルを軽快させる A2aRアンタゴニストは乾癬と好中球性気道炎症モデルを軽快させる

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫担当細胞自体が神経伝達物質を産生・貯蔵・分泌していることを明らかにした。実際パーキンソン病治療薬は自己免疫病をはじめとする各種好中球性炎症に対する抑制効果を示した。ヒトに対しても有効である可能性が高い。次いで、活性化T細胞(特にTh1とTh17)自体がIL-8を大量に産生しており、D2様受容体アゴニストがこれを抑制することを明らかにした。これはすでに成立した病気に対してもD2様受容体アゴニストが有効であることを示唆しており、今後の治療薬の開発に大きく貢献していく成果と考える。

研究成果の概要(英文)：The following results were achieved. IL-21 expression control mechanism Fc RI expressed on DC induces Th1 DC-produced ACh induces Th1 DA signal induces IL-8 in human Th1 / 17 Serotonin receptor stimulation in APC induces IL-8 from antigen-presenting cells DA signal regulates cytokine production not only in acquired immunity but also in natural immunity TA is a D2-like receptor agonist and relieves ulcerative colitis model TA eases psoriasis, periodontitis, and atopic dermatitis models An A2aR antagonist relieves psoriasis and neutrophilic airway inflammation models

研究分野：免疫学、膠原病およびアレルギー内科学

キーワード：好中球性炎症 ドーパミン D1Rアンタゴニスト D2Rアゴニスト

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アジュバントは免疫応答を抗原非特異的に増強する物質である。一方、そのT helper(Th) 細胞応答増強作用には質的な異質性があり、Th1, Th2, Th17 応答をそれぞれ特異的に増強させるアジュバントも知られている。我々はこのようなアジュバント活性・抑制物質を質的に評価する実験系を作り、複数の試薬や上市薬をスクリーニングした。その結果、パーキンソン病治療薬(D1 様受容体アンタゴニストおよびD2 様受容体アゴニスト)にTh2/17応答を抑制する活性があることを明らかにした(特許第5442256号)。

当初はTh の分化誘導相にのみ有効であると考えられ、各種マウスモデルを用いてその予防投与による有効性を確認した。しかし、すでに活性化されたT 細胞が産生するIL-8 を抑制する効果も有することを明らかにし、各種動物モデルでパーキンソン病治療薬の効果を検証した。またタンニン酸およびガロイル基を有する各種低分子化合物にD2 様受容体アゴニスト活性があることも発見した(PCT/JP2018/020696)。すなわち、パーキンソン病治療薬はこのような各種好中球性炎症の(しかも病気発症後の)特効薬となりうると思われる。なお、副腎皮質ステロイドは好酸球性炎症の特効薬であるが、好中球性炎症に対する効果は限定的である。

この一連の流れとは別に、DA シグナルが自然免疫および獲得免疫に与える影響についてマウスを用いて解析した。その結果、DA シグナルは自然免疫にも獲得免疫にも抗炎症的に作用し、DA 受容体を介したシグナルはG 蛋白のみならず、IP3 をも介していることを明らかにした。シグナル伝達に関するこれらの「問い」を追求することは、DA シグナルが免疫系に与える影響を包括的に理解する上で必須であると考えた。

### 2. 研究の目的

自己免疫病などの好中球性炎症において、ドーパミン(DA)を介したシグナルが重要な役割を担っており、DA 受容体アゴニスト・アンタゴニストが各種好中球性炎症に対する抑制効果を有していることを世界にさきがけて明らかにしてきた。

DA 受容体は5 つのサブタイプからなり、D1 様受容体(D1R, D5R)とD2 様受容体(D2R, D3R, D4R)を介したシグナルは細胞内cAMP 濃度をそれぞれ増加、減少させる。本研究は免疫担当細胞におけるDA の作用機構を解明し、臨床応用に向けた知見を提供することを目的とした。

具体的には以下の3つの目的を解決する事を目指した。

目的1) 免疫細胞に対するD2様受容体アゴニストの作用機構を明らかにする。

目的2) 脳血液関門を通過しない新規D1 様受容体アンタゴニストを開発する。

目的3) 申請者らが既に手にしている各種動物モデルを用いて、同薬の有効性を実証する。

### 3. 研究の方法

マウス乾癬モデル、ラット歯周病モデル、マウスアトピー性皮膚炎モデル、マウス好中球性気道炎症モデル、マウス EAE モデル、を用いて解析した。

### 4. 研究成果

乾癬モデルマウスを用いた実験

乾癬発症モデルは、C57BL/6マウスの耳介にTLR7/8リガンドであるイミキモド(IMQ)を皮膚に塗布し誘導した(遺伝子発現変化がヒト乾癬に近いとされている)。このマウスに各種薬剤含むクリームを作成し、予防的効果・治療的効果を「耳介厚」と「HE染色標本作製」とで評価した。結果は、誘導開始から8日目の予防的投与軍においてIMQクリーム単独に比べてノウリアスト(イ

ストラデフィリン)を含んだ群で有意な耳介肥厚抑制、表皮肥厚抑制等が観察された。

#### ラット歯周病モデルを用いた実験

薬剤を用いて歯周病を誘導すると同時にその抑制効果を評価した。歯周病モデルは第2臼歯を中心に疾患誘導薬であるCarrageenanをしみこませ絹糸を埋め込み誘導した。コントロール群に比べて、疾患誘導群では有意な歯槽骨の吸収増大が確認したが、薬剤群では有意な歯槽骨の吸収抑制が確認した。

#### アトピー性皮膚炎モデルを用いた実験

NC/Ngaマウスの背部を剃毛し、2% TNCBでアトピー性皮膚炎モデルマウスを作成した。ノウリアスト(イストラデフィリン)が5%濃度になるようにワセリンに混合してクリームを作成した。各クリームを背部に塗布し、その病態変化を観察した。開始から10日目において、誘導群と比較してクリーム塗布群で有意な病態抑制が観察された。

#### 好中球性気道炎症モデルマウスを用いた実験

OVA+CFAをD011.10マウスの鼠径部に皮下注射した後、OVAに対する獲得免疫を再活性化させる目的でOVAを霧化吸入させた。このようにして作製した好中球性気道炎症モデルマウスから肺リンパ球を採取し培養したところ、ノウリアスト(イストラデフィリン)では超純水を投与したコントロール群と比較してIL-17A産生が抑制された。我々の過去の研究でからIL-17Aはこのモデルにおける好中球性炎症の良い指標であることは明らかにしておりノウリアスト(イストラデフィリン)により好中球性気道炎症が抑制されることが示唆された。

#### 実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)モデルマウスを用いた実験

PLP139-151 ペプチド+ CFAをSJL/Jマウスの鼠径部に皮下注射して誘導した。その後、超純水またはノウリアスト(イストラデフィリン)の経口投与を週3回 胃ゾンデを用いて行った。経口投与と同時に運動症状の程度を経時的にスコアで評価し、20日後には脊髄を摘出しHE染色および抗mouseCD3 抗体を用いた免疫染色を行った。超純水のみを投与したコントロール群と比較して、ノウリアスト(イストラデフィリン)を投与した群で運動症状の増悪が抑制され、病理学的にも錐体路周辺へのCD3+T細胞の浸潤が抑制された。

アデノシン受容体アンタゴニストは好中球性気道炎症モデル・乾癬モデルを効率よく軽快させる事を示した。

また、タンニン酸はドーパミン受容体アゴニストであり、歯周病・アトピー性皮膚炎・乾癬動物モデルを軽快させることを示した。目的2については現在進行中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 2件）

1. 著者名 Kawano, M., Saika, K., Takagi, R., Matsui, M. and Matsushita, S.	4. 巻 5
2. 論文標題 Tannic acid acts as an agonist of the dopamine D2L receptor, regulates immune responses, and ameliorates experimentally induced colitis in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain, Behavior, & Immunity-Health.	6. 最初と最後の頁 100071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbih.2020.100071	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 -

1. 著者名 Kikue Saika, Masahiko Kato, Hideaki Sanada, Sho Matsushita, Masanori Matsui, Hiroshi Handa and Masaaki Kawano.	4. 巻 --
2. 論文標題 Induction of adaptive immune responses against antigens incorporated within the capsid of simian virus 40	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of General Virology	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) 10.1099/jgv.0.001445	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 -

1. 著者名 Rie Takagi, Masaaki Kawano, Tsuyoshi Sato and Sho Matsushita.	4. 巻 22
2. 論文標題 Tannic acid, a dopamine receptor agonist, ameliorates periodontitis, atopic dermatitis and psoriasis in animal models.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Trends in Immunology	6. 最初と最後の頁 11-17
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 Mieko Tokano, Masaaki Kawano, Rie Takagi and Sho Matsushita.	4. 巻 12
2. 論文標題 Istradefylline, an adenosine A2a receptor antagonist, ameliorates neutrophilic airway inflammation and psoriasis in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin. Exp. Neuroimmunol	6. 最初と最後の頁 268-275
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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川野雅章 戸叶美枝子 高木理英 松下祥
2. 発表標題 アデノシン受容体を介した好中球性炎症制御
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸叶美枝子 松下祥 高木理英 川野雅章
2. 発表標題 アデノシンはエフェクターCD4陽性T細胞に作用しIL-17産生を介して好中球性炎症を惹起する
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸叶美枝子 松下祥 高木理英 川野雅章
2. 発表標題 アデノシンはTh17細胞の分化を誘導しアデノシンA2a受容体拮抗薬はEAEを制御する
3. 学会等名 第33回日本神経免疫学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaaki Kawano, Mieko Tokano, Rie Takagi, Toshimasa Yamamoto, Sho Matsushita.
2. 発表標題 Extracellular adenosine induces hypersecretion of IL-17A by T-helper 17 cells through the adenosine A2a receptor to promote neutrophilic inflammation
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計8件

産業財産権の名称 アデノシンA2A受容体を標的とする化合物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-195478	取得年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 アデノシンA2A受容体を標的とする化合物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/24876	取得年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 アデノシン産生酵素を標的とする組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-109854	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 アデノシン産生酵素を標的とする組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/43886	取得年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 アデノシンA2A受容体の活性化を抑制する組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-148336	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 播種性血管内凝固症候群の予防又は治療用組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子、前崎繁文、樽本	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-031972	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 播種性血管内凝固症候群の予防又は治療用組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子、前崎繁文、樽本	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-071128	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 播種性血管内凝固症候群の予防又は治療用組成物	発明者 松下祥、川野雅章、 高木理英、戸叶美枝 子、前崎繁文、樽本	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2022/001353	取得年 2021年	国内・外国の別 外国

〔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
---------	---------