

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32620

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2023

課題番号：19K23851

研究課題名（和文）ロイコトリエンB4受容体を標的としたアレルギー性結膜炎新規治療薬の検証

研究課題名（英文）Validation of a novel therapeutic agent for allergic conjunctivitis targeting the leukotriene B4 receptor.

研究代表者

平形 寿彬（Hirakata, Toshiaki）

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：20843155

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、アレルギー性結膜炎におけるLTB4受容体(BLT1、BLT2)の役割を明らかにし、アレルギー性結膜炎の新規治療法を開発することである。野生型マウスとBLT1遺伝子欠損マウスに対し、ブタクサ花粉誘発アレルギー性結膜炎マウスモデルを作成し両群間の比較検討を行なったところ、アレルギー性結膜炎の重症度がBLT1遺伝子欠損マウスで抑制されることが示された。また、好中球もアレルギー性結膜炎において役割を担っていることが示唆され、LTB4/BLTが重要な鍵となっている可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性結膜炎は充血、流涙、眼脂、掻痒などの症状により生活の質(quality of life: QOL)が大きく損なわれる疾患である。近年増加傾向にあり、現在は世界の人口の3割以上が罹患していると言われている。本研究では、BLT1、BLT2遺伝子欠損マウスを用い、マウスアレルギー性結膜炎モデルにおけるロイコトリエンB4受容体の役割を初めて明らかにする。そして、ロイコトリエンB4受容体抑制によるアレルギー性結膜炎の新規治療法の確立につながることを期待され、社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to clarify the role of LTB4 receptors (BLT1 and BLT2) in allergic conjunctivitis and to develop a new treatment for allergic conjunctivitis. The study compared ragweed pollen-induced allergic conjunctivitis in wild-type and BLT1 gene-deficient mice, and showed that the severity of allergic conjunctivitis was reduced in BLT1 gene-deficient mice. The results suggest that neutrophils also play a role in allergic conjunctivitis, and that LTB4/BLT may be a key factor in the pathogenesis of allergic conjunctivitis.

研究分野：眼アレルギー疾患

キーワード：アレルギー性結膜炎 脂質メディエーター ロイコトリエンB4 BLT1 好酸球 好中球

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性結膜炎は充血、流涙、眼脂、掻痒などの症状により生活の質(quality of life: QOL)が大きく損なわれる疾患である。近年増加傾向にあり、現在は世界の人口の 3 割以上が罹患していると言われている。本疾患の根治を目指す申請者は、オメガ 3 脂肪酸摂取が、結膜内の炎症性脂質メディエーターの産生を減少させることによりアレルギー性結膜炎を抑制することを見いだした(Hirakata T, et al. FASEB J, 2019)。オメガ 3 脂肪酸摂取によって顕著に減少した脂質メディエーターがロイコトリエン B₄(LTB₄)であった。しかし、アレルギー性結膜炎発症における LTB₄ の役割や、その受容体(BLT1、BLT2)の役割はこれまで明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、BLT1、BLT2 遺伝子欠損マウスを用い、マウスアレルギー性結膜炎モデルにおけるロイコトリエン B₄ 受容体の役割を初めて明らかにすることである。

3. 研究の方法

ブタクサ花粉を用いアレルギー性結膜炎を誘発した野生型マウス(BALB/c)と、BLT1 遺伝子欠損マウス、BLT2 遺伝子欠損マウスの表現型を比較検討した。

- (1) アレルギー性結膜炎マウスモデルの作成
ブタクサ花粉を用いて感作、誘発を行い、アレルギー性結膜炎マウスモデルを作成した。マウスは野生型マウス、BLT1 遺伝子欠損マウス、BLT2 遺伝子欠損マウスを用い実験に興じた。
- (2) アレルギー性結膜炎重症度評価
アレルギー性結膜炎の症状および臨床所見はクリニカルスコア(Magone, et al. Clin Immunol and Immunopath. 1998)を用いて、重症度を客観的に評価する。
- (3) Th2 免疫応答の確認
アレルギー性結膜炎は Th2 型の免疫応答により引き起こされる。アレルギー性結膜炎を惹起させた BLT1 遺伝子欠損マウスと野生型マウスの血清 IgE 値を ELISA 法で測定し、全身の Th2 応答の程度を評価した。さらに、マウス眼球から結膜組織を採取し総 RNA を回収し、リアルタイム RT-PCR 法にてサイトカイン(II4, II5, II13)及びケモカイン(Ccl5, Ccl11)の mRNA 量を定量化し、結膜に生じたアレルギー性変化を評価した。
- (4) 結膜への浸潤する好酸球の確認
HE 染色、ギムザ染色した組織標本を用いて、好酸球の結膜組織への浸潤を評価した。
- (5) 結膜中で産生される脂質メディエーターの確認
マウス結膜中で産生される脂質メディエーターの確認について質量分析計を用いて網羅的に測定・解析を行なった。
- (6) 好中球のアレルギー性結膜炎における役割の確認
Anti-Ly6g を用いて、好中球抑制マウスを作成し、アレルギー性結膜炎の重症度評価を行なった。

4. 研究成果

- (1) アレルギー性結膜炎マウスモデルの作成
野生型マウス、BLT1 遺伝子欠損マウス、BLT2 遺伝子欠損マウスともにアレルギー性結膜炎を惹起することに成功した。
- (2) アレルギー性結膜炎重症度評価
クリニカルスコアは野生型マウスと比較し、BLT1 遺伝子欠損マウスで大きく抑制された(図1)。BLT2 遺伝子欠損マウスではその差は BLT1 遺伝子欠損マウスと比較し小さかった。そのため、実験は BLT1 遺伝子欠損マウスで進めることとした。また、痒みを表すとされる引っかき行動についても、BLT1 遺伝子欠損マウスでは大きく抑制されることが示され、BLT1 はアレルギー性結膜炎の症状も軽減されることが示唆された(図2)。
- (3) Th2 免疫応答の確認
血清 IgE 値は野生型マウスと比較し、BLT1 遺伝子欠損マウスで低い結果となった。さらに、結膜組織中の Th2 サイトカインの発現量も BLT1 遺伝子欠損マウスで低かった。
- (4) 結膜への浸潤する好酸球の確認
結膜への好酸球浸潤数は野生型マウスと比較し、BLT1 遺伝子欠損マウスで低いことが確認された。
- (5) 結膜中で産生される脂質メディエーターの確認
アレルギー性結膜炎に発症に関わるとされている炎症性脂質メディエーターであるプロスタグランジン類は野生型マウスと BLT1 遺伝子欠損マウス間で差がなかった。BLT1 遺伝子欠損はアレルギー性結膜炎において脂質メディエーターの組成は変化させず、ア

- アレルギー性結膜炎を抑制することが示唆された。
- (6) 好中球のアレルギー性結膜炎における役割の確認
 好中球の結膜浸潤は野生型マウスと比較し、BLT1 遺伝子欠損マウスで減少した。さらに、アレルギー性結膜炎重症度を示すクリニカルスコアは、野生型マウスと比較し、好中球抑制マウスで抑制された。BLT1 は好酸球だけでなく、好中球の結膜浸潤も減少させることでアレルギー性結膜炎を抑制していることが示唆された。

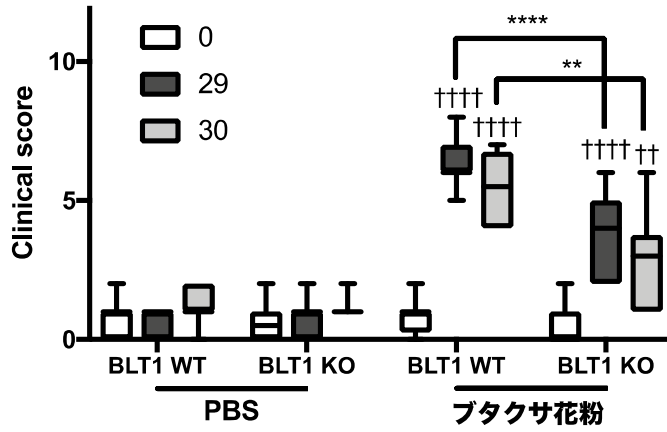


図1:クリニカルスコア

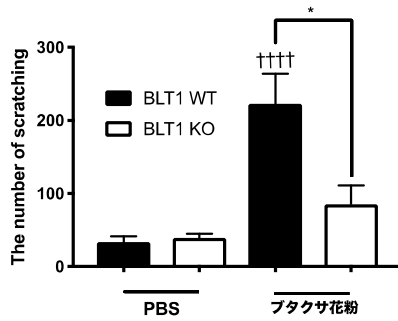


図2:マウス引っかき回数

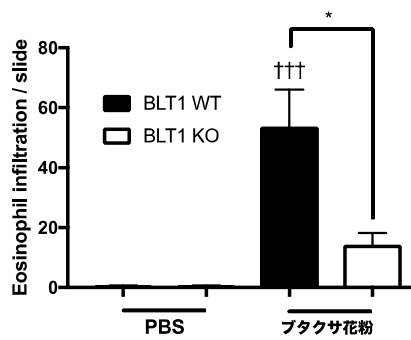


図3:結膜への好酸球浸潤数

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Chiba-Mayumi Miyako, Hirakata Toshiaki, Yamaguchi Masahiro, Murakami Akira	4. 巻 25
2. 論文標題 Infliximab recovers central cone dysfunction with normal fundus in a patient with ulcerative colitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology Case Reports	6. 最初と最後の頁 101244 ~ 101244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoc.2021.101244	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 Hirakata Toshiaki, Huang Tianxiang, Hiratsuka Yoshimune, Yamamoto Shutaro, Inoue Akira, Murakami Akira	4. 巻 16
2. 論文標題 Clinical patterns of rhegmatogenous retinal detachment during the first state of emergency for the COVID-19 pandemic in a Tokyo center	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0261779 ~ 0261779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0261779	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 Hirakata Toshiaki, Hiratsuka Yoshimune, Yamamoto Shutaro, Kanbayashi Koki, Kobayashi Hiroaki, Murakami Akira	4. 巻 11
2. 論文標題 Risk factors for macular pucker after rhegmatogenous retinal detachment surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18276 ~ 18276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97738-x	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 Asaoka Satoko, Kasuga Toshimitsu, Matsunaga Toru, Hayashi Yusuke, Asada Yosuke, Iwamoto Satoshi, Hirakata Toshiaki, Honda Rio, Obazawa Hanako, Sasaki Hidenori, Ohta Toshihiko, Matsuda Akira	4. 巻 30
2. 論文標題 Operative Complications of Glaucoma Drainage Implant Tube Insertion Through the Sulcus for Pseudophakic Eye	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Glaucoma	6. 最初と最後の頁 e169 ~ e174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IJG.0000000000001783	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 Matsuda Akira, Hirakata Toshiaki, Asada Yosuke, Nakae Susumu	4. 巻 2223
2. 論文標題 Experimental Mouse Models of Ragweed- and Papain-Induced Allergic Conjunctivitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Mouse Models of Ragweed- and Papain-Induced Allergic Conjunctivitis	6. 最初と最後の頁 133 ~ 149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1001-5_10	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 Hirakata Toshiaki, Fujinami Kaoru, Saito Wataru, Kanda Atsuhiko, Hirakata Akito, Ishida Susumu, Murakami Akira, Tsunoda Kazushige, Miyake Yozo	4. 巻 65
2. 論文標題 Acute unilateral inner retinal dysfunction with photophobia: importance of electrodiagnosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 42 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-020-00780-x	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 Adachi Keisuke, Asada Yosuke, Hirakata Toshiaki, Onoue Miki, Iwamoto Satoshi, Kasuga Toshimitsu, Matsuda Akira	4. 巻 10
2. 論文標題 Alteration of gene expression in mice after glaucoma filtration surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-72036-0	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 Hirakata Toshiaki, Matsuda Akira, Yokomizo Takehiko	4. 巻 1865
2. 論文標題 Leukotriene B4 receptors as therapeutic targets for ophthalmic diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids	6. 最初と最後の頁 158756 ~ 158756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbalip.2020.158756	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 Asada Y, Okano M, Ishida W, Iwamoto S, Fukuda K, Hirakata T, Tada N, Fukushima A, Ebihara N, Kudo A, Matsuda A.	4. 巻 2
2. 論文標題 Periostin deletion suppresses late-phase response in mouse experimental allergic conjunctivitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 233-239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2018.09.007.	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 Toshiaki Hirakata, Takehiko Yokomizo, Akira Matsuda	4. 巻 5
2. 論文標題 The Roles of omega-3 Fatty Acids and Resolvins in Allergic Conjunctivitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Curr Opin Allergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 517-525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ACI.0000000000000561.	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 Matsuda A, Asada Y, Suita N, Iwamoto S, Hirakata T, Yokoi N, Ohkawa Y, Okada Y, Yokomizo T, Ebihara N.	4. 巻 4
2. 論文標題 Transcriptome Profiling of Refractory Atopic Keratoconjunctivitis by RNA Sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 1610-1614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2018.11.007.	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 平形寿彬, 横溝岳彦	4. 巻 6
2. 論文標題 脂質と眼アレルギー	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アレルギーの臨床	6. 最初と最後の頁 461-464
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 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 Onoue M, Saga A, Adachi K, Asada Y, Hirakata T, Iwamoto S, Ueki S, Ebihara N, Matsuda A.	4. 巻 73
2. 論文標題 Eosinophil extracellular trap formation in the giant papillae of atopic keratoconjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 177-179
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9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 平形寿彬, 高丹, 村上晶
2. 発表標題 網膜毛細血管炎を生じたロドプシン変異を持つ網膜色素変性症の一例
3. 学会等名 日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 為谷祐樹, 平形寿彬, 井上亮, 山本修太郎, 平塚義宗, 村上晶
2. 発表標題 糖尿病患者における頸動脈血流と網膜血管密度との関連についての検討
3. 学会等名 日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾原祐樹, 平形寿彬, 井上亮, 山本修太郎, 平塚義宗, 村上晶
2. 発表標題 急性帯状潜在性網膜外層症と類似した所見を呈した梅毒性網膜外層症の2例
3. 学会等名 第60回 網膜硝子体学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平形寿彬、足立啓介、李賢喆、安川賢、佐伯和子、奥野利明、村上晶、松田彰、横溝岳彦
2. 発表標題 好中球のアレルギー性結膜炎への関与の検証
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平形寿彬、李賢喆、安川賢、足立啓介、佐伯和子、奥野利明、村上晶、松田彰、横溝岳彦.
2. 発表標題 ロイコトリエンB4受容体(BLT1)のアレルギー性結膜炎への関与の検証
3. 学会等名 第124回日本眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiaki Hirakata, Hyeon-Cheol Lee, Ken Yasukawa, Keisuke Adachi, Kazuko Saeki, Toshiaki Okuno, Akira Murakami, Akira Matsuda, Takehiko Yokomizo
2. 発表標題 Deficiency of BLT1, the high-affinity receptor for LTB4, alleviates allergic conjunctivitis in mice.
3. 学会等名 ICBL (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Adachi K, Hirakata T, Asada Y, Iwamoto S, Kudo A, Matsuda A.
2. 発表標題 The role of periostin in the conjunctival bleb after trabeculectomy in mice.
3. 学会等名 ARVO, 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Onoue M, Asada Y, Iwamoto S, Hirakata T, Adachi K, Matsuda A
2. 発表標題 The influence of macrophage depletion in mouse model of filtration surgery
3. 学会等名 ARVO, 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平形寿彬, 原史拓, 中尾新太郎.
2. 発表標題 急性帯状潜在性網膜外層症患者における網膜電気生理学的検討.
3. 学会等名 第70回日本臨床視覚電気生理学会
4. 発表年 2024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
---------	---------