

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 26 日現在

機関番号：42722

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591099

研究課題名（和文） ヒスタミン H4 受容体と H1 受容体のアレルギー疾患における作用

研究課題名（英文） Effect of histamine H4 and H1 receptor on allergic diseases

研究代表者

清家 正博（SEIKE MASAHIRO）

相模女子大学短期大学部・食物栄養学科・教授

研究者番号：50346714

研究成果の概要（和文）：慢性のアレルギー性接触皮膚炎において、ヒスタミンは皮膚病変を増悪させる。その際に、副腎皮質ホルモン剤に加えてヒスタミン H1 受容体拮抗剤が使用されている。本研究では、2、4、6 トリニトロ、1 クロロベンゼン（TNCB）を背部皮膚に反復塗布して慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させたマウスに H1 受容体拮抗剤とともに H4 受容体拮抗剤を投与して、その効果について検討した。H1 受容体拮抗剤には塩酸オロパタジンを H4 受容体拮抗剤には JNJ7777120 を用いた。その結果、両剤の併用は H1 受容体拮抗剤単独よりも皮膚病変に対して有効であった。血清 IgE や皮膚病変部の IL-4、5、6（Th2 サイトカイン）量は、両剤の併用によって減少した。H1 と H4 受容体拮抗剤の併用は、単剤投与がもたらす弊害を代償し、慢性アレルギー性接触皮膚炎に対する新しい治療法になる可能性が示唆される。

研究成果の概要（英文）：Histamine facilitates development of eczematous lesions in chronic allergic contact dermatitis. In addition to the well-known corticosteroid treatment, histamine H1 receptor (H1R) antagonists also have been used. This study observed effects of histamine H4 receptor (H4R) antagonist usage with H1R antagonist in a murine chronic allergic contact dermatitis model, developed by repeated percutaneous challenge to the dorsal skin with 2,4,6-trinitro-1-chlorobenzene (TNCB). The H1R antagonist olopatadine hydrochloride and/or the H4R antagonist JNJ7777120 were then administered. Combination therapy was more effective than H1R antagonist monotherapy. Serum IgE and levels of interleukin (IL)-4, IL-5 and IL-6 (Th2 cytokines) in eczematous lesions decreased with combined therapy. Combined therapy with H1R and H4R antagonists counteracts the disadvantages of each as monotherapeutic agents and potentially represents a new strategy for the treatment of chronic allergic contact dermatitis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アレルギー皮膚炎・ヒスタミン H1 受容体拮抗剤・ヒスタミン H4 受容体拮抗剤

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎やアレルギー性接触皮膚炎では慢性化して重篤な症状に悩まされる場合が多い。ヒスタミンはその受容体を介して痒みを起こすとともに炎症反応を増悪させると考えられており、日常診療においては蕁麻疹への治療と同様に抗ヒスタミン剤が頻用されている。しかし、実際に抗ヒスタミン剤の作用については十分には明らかになっておらず、有効であるという経験に基づいて処方されているのが現状である。

ヒスタミンは H1 から H4 までの受容体を持つことが知られている。H1 受容体は末梢神経、角化細胞や血管内皮細胞などに発現しており、痒みや血管の透過性などに関与していると考えられる。H2 受容体は角化細胞、メラノサイト、マクロファージやリンパ球上に発現しているが、皮膚炎への関与は少ない。H3 受容体は中枢神経細胞に発現しており、H2 受容体とともに皮膚炎への関与はほとんど無いとみなされている。一方、近年発見された H4 受容体は肥満細胞や好酸球に発現しており、炎症反応を増悪させていることが明らかになった。

マウスの皮膚にハプテンを反復塗布すると慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症し、アトピー性皮膚炎に類似した状態になることが知られている。我々は、ヒスチジン脱炭酸酵素をコードする遺伝子をノックアウトしたヒスタミン欠如マウスにハプテンを反復塗布して、慢性アレルギー性皮膚炎を発症させた。その結果、ヒスタミン欠如マウスでは痒みの誘発が抑制されるとともに、皮膚病変や血液所見が野性型マウスに比べて軽減され、慢性アレルギー性皮膚炎へのヒスタミンの関与が明らかになった。この慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させたヒスタミン欠如マウスに H1 および H4 受容体作動剤を個別に投与すると、諸症状は増悪した。また、慢性アレルギー性皮膚炎を発症させた野生型マウスにヒスタミン H1 および H4 受容体拮抗剤を個別に投与すると、諸症状は逆に改善した。以上の結果から、ヒスタミンは H1 および H4 受容体を介して慢性アレルギー性皮膚炎を増悪させ、H1 および H4 受容体拮抗剤投与がアレルギー症状の改善に対して有効であることがわかった。しかし、ヒスタミン欠如マウスの実験結果から、野生型マウスへの H1 および H4 受容体拮抗剤の単剤投与では不十分であることも同時に判明した。

2. 研究の目的

ハプテンを反復塗布して慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症させたマウスにヒスタミン H1 受容体拮抗剤（塩酸オロパタジン）

を投与すると、皮膚病変が改善し、病変部の Th1 と Th2 サイトカイン量も減少する。それに伴い、搔破回数と関連する substance P や c-Fos の発現も改善する。しかし、それらの効果はヒスタミン欠如マウスに比べて限定的で、H1 受容体以外の関与が示唆される。

一方、ヒスタミン H4 受容体拮抗剤（JNJ7777120）を投与した場合も、皮膚病変が改善し、病変部の Th2 サイトカインは減少するが、その一方で Th1 サイトカインは増加する。本研究では、慢性アレルギー性接触皮膚炎における H1 と H4 受容体拮抗剤の併用による効果を検証した。

3. 研究の方法

（1）慢性アレルギー性皮膚炎の発症

C57BL/6 マウスの背部に 1% 2、4、6 トリニトロ、1 クロロベンゼン（TNCB）アセトン溶液を塗布した。感作が成立する 1 週間後に TNCB を再塗布して急性アレルギー性皮膚炎を発症させた。1 回/日のペースで 10 日間繰り返し TNCB を塗布すると、病変部は慢性アレルギー性皮膚炎に変化した。

（2）H1 および H4 受容体拮抗剤の投与

塩酸オロパタジンと JNJ7777120 は連日惹起の 30 分前に経口投与した。TNCB の最終塗布の 24 時間後に、病変部の皮膚と血液の採取を行った。

（3）皮膚と血液の分析

両ヒスタミン受容体拮抗剤の単独および併用の効果は、皮膚病変については HE とトルイジンブルー染色を行い表皮厚、肥満細胞と好酸球数から判定した。皮膚病変部の Th2 サイトカインとして IL-4、IL-5、IL-6 と IL-13、Th1 サイトカインとして IL-12 と IFN- γ 量を測定した。血液としては血清 IgE 量を測定して評価した。

4. 研究成果

（1）ヒスタミン H1 および H4 受容体拮抗剤のそれぞれ単独および併用と皮膚病理組織について

TNCB を 10 日間反復塗布すると、皮膚病理組織において著明な表皮肥厚と真皮の稠密な炎症細胞浸潤が認められた。この慢性アレルギー性皮膚炎病変は、塩酸オロパタジン単独、JNJ7777120 単独および両剤併用でそれぞれ改善した。塩酸オロパタジン単独で、表皮厚、肥満細胞および好酸球数が減少した。JNJ7777120 単独でも減少した。塩酸オロパタジンと JNJ7777120 の併用は、塩酸オロパタジン単独よりも、表皮厚、肥満細胞および好酸球数をさらに減少させ、皮膚病変部の改善が実証された（図 1）。

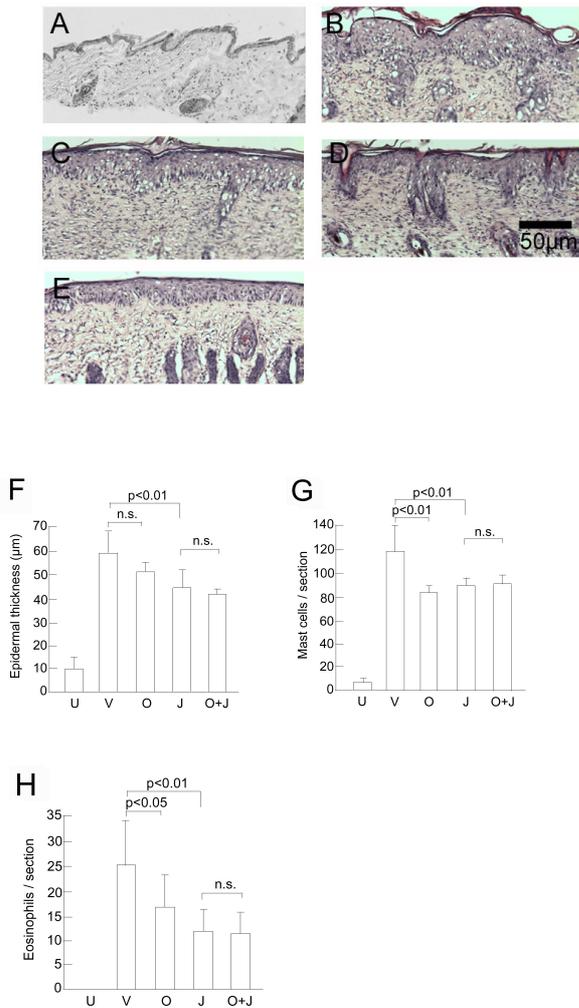


図1 塩酸オロパタジンと JNJ7777120 の効果

(A-E) 皮膚病理組織 (A) 未惹起 (B) 惹起 (C) 惹起+塩酸オロパタジン (D) 惹起+JNJ7777120 (E) 惹起+塩酸オロパタジン+JNJ7777120

(F) 表皮厚 (G) 肥満細胞数 (H) 好酸球数
U、未惹起；V、惹起；O、塩酸オロパタジン；J、JNJ7777120；O+J、塩酸オロパタジン+JNJ7777120、* <0.05 、** <0.01

(2) ヒスタミン H1 および H4 受容体拮抗剤のそれぞれ単独および併用と皮膚病変部の Th2 と Th1 サイトカインについて

皮膚組織中の Th2 サイトカインである IL-4 量は、TNCB の反復塗布に伴って増加した。塩酸オロパタジンおよび JNJ7777120 をそれぞれ単独投与すると、IL-4 量は減少した。両剤の併用は、単独よりも IL-4 量をさらに減少させた。皮膚組織中の IL-5 量も、TNCB の反復塗布に伴って増加した。塩酸オロパタジンおよび JNJ7777120 をそれぞれ単独投与すると、IL-5 量は IL-4 量と同様に減少した。しかし、両剤を併用しても IL-5 量は有意には減少しなかった。皮膚組織中の IL-6 量も、

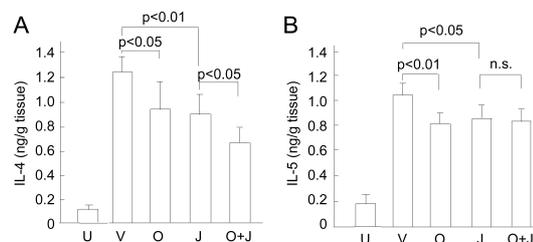
TNCB の反復塗布に伴って増加した。塩酸オロパタジンの単独投与では IL-6 量は減少しなかったが、JNJ7777120 と併用すると、有意に減少した。IL-13 も他の Th2 サイトカインと同様に TNCB の反復塗布によって著増した。しかし、塩酸オロパタジンや JNJ7777120 の単剤投与および併用にも減少しなかった。同じ Th2 サイトカインでも、ヒスタミンの関与が異なることを示しており、今後の更なる研究が必要である (図 2)。

皮膚組織中の Th1 サイトカインである IFN- γ 量は、TNCB の反復塗布によって増加した。塩酸オロパタジンの単独投与で減少するが、JNJ7777120 の単独投与ではむしろ増加する傾向が認められた。しかし、併用によって、その増加は相殺された。IL-12 量も、TNCB の反復塗布によって増加した。塩酸オロパタジンの単独投与で減少するが、JNJ7777120 の単独投与ではむしろ増加する傾向が認められた。しかし、併用によって、その増加は相殺された (図 2)。

本研究によって、マウスの慢性アレルギー性接触皮膚炎では、ヒスタミン H1 と H4 受容体拮抗剤の併用は、ヒスタミン H1 或いは H4 受容体拮抗剤の単独投与よりも、皮膚病理組織を改善することが明らかになった。ヒスタミン H4 受容体拮抗剤は新しい抗アレルギー剤として有望視されているが、JNJ7777120 単独では Th1 サイトカインで皮膚炎を増悪させる IFN- γ と IL-12 量をやや増加させる傾向が認められた。この増加をヒスタミン H1 受容体拮抗剤が相殺させる点などを考慮に加えると、両剤の併用はアレルギー疾患への治療法として有望であることがわかる。

(3) ヒスタミン H1 および H4 受容体拮抗剤のそれぞれ単独および併用と血清 IgE について

血清 IgE 量は、TNCB の反復塗布に伴って増加した。塩酸オロパタジンおよび JNJ7777120 をそれぞれ単独投与すると、IgE 量は減少した。両剤の併用は、単独よりも IgE 量をさらに減少させた (図 2)。



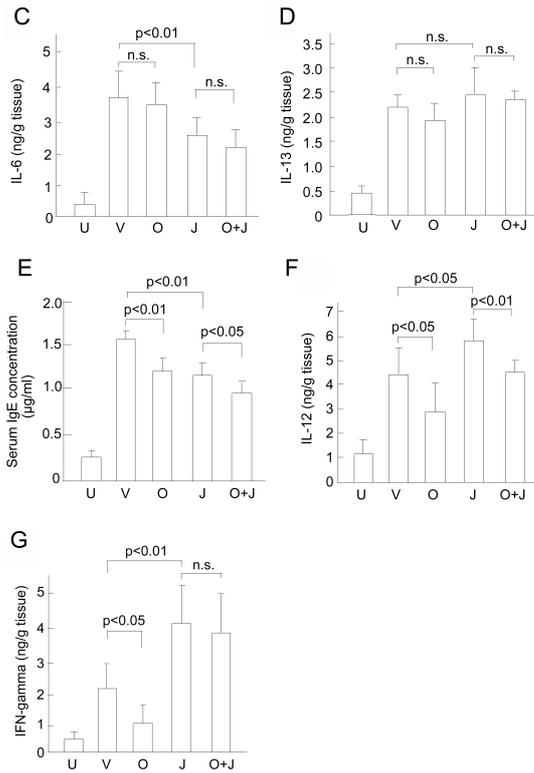


図2 塩酸オロパタジンと JNJ777120 の血清 IgE と組織中のサイトカインへの効果

(A) IL-4 (B) IL-5 (C) IL-6 (D) IL-13 (E) 血清 IgE (F) IL-12 (G) IFN-gamma U、未惹起；V、惹起；O、塩酸オロパタジン；J、JNJ777120；O+J、塩酸オロパタジン+JNJ777120、*<0.05、**<0.01

(4) その他

慢性アレルギー性皮膚炎の研究中に、皮膚病変部の Th17 サイトカインである IL-17 と IL-22 の増加と Th2 サイトカインである IL-4 および血清 IgE の減少が相関することがわかった。IL-17-/-マウスへの皮膚炎の発症と野性型マウスへの IL-17 投与を通して IL-17 の作用であることが実証され、慢性アレルギー性皮膚炎においては IL-17 サイトカインが Th2 サイトカイン産生を抑制して、皮膚病変の改善をもたらしていると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

A Matsushita, M Seike, H Okawa, Y Kadowaki, H Ohtsu, Advantages of histamine H4 receptor antagonist usage with H1 receptor antagonist for the treatment of murine allergic contact dermatitis. Exp Dermatol

[学会発表] (計 3 件)

(1) 清家正博、慢性アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミン H4 受容体の作用、第 40 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、2010 年、12 月、広島

(2) 清家正博、アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミンの作用、第 15 回日本ヒスタミン学会、2011 年、10 月、盛岡

(3) 清家正博、松下亜由子、アレルギー性接触皮膚炎と IL-17、第 41 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、2011 年、7 月、山梨

[図書] (計 1 件)

W Bäumer, T Werfel, R Seifert, M Kietzmann, D Neumann, R Khanferyan, H Ohtsu, M Seike, E Masini, SE Dahlen, A Sydbom, R Gutmer, Histamine in atopic disorders, In: E Tiligada, eds. Histamine H4 receptor: a novel drug target for immunoregulation and inflammation. European Cooperation in Science and Technology (in press)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

http://www.sagami-wu.ac.jp/faculty/junior_college/management/teacher/details/saikemasahiro.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清家 正博 (SEIKE MASAHIRO)
相模女子大学短期大学部・食物栄養学科・教授
研究者番号 : 50346714

(2) 研究分担者
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :