

## 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 5 月 31 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591247

研究課題名（和文） そう痒性疾患の治療におけるセマフォリン 3A 発現の変化と新規治療薬の開発

研究課題名（英文） Aberrant epidermal expression of semaphorin 3A in pruritic skin diseases and development of new therapeutic drugs for pruritus

研究代表者

相原 道子 (AIHARA MICHIKO)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：90231753

研究成果の概要（和文）：

そう痒性皮膚疾患において semaphorin 3A（以下 Sema3A）、神経成長因子 (NGF) の発現異常を認めた。アレルギー性鼻炎モデルマウスに Sema3A を点鼻し、鼻炎症状の軽快と神経伸長抑制がみられた。ドライスキンモデルマウスにコラーゲントリペプチドの経口投与を行い、そう痒の低下とともに表皮内神経線維伸長抑制、表皮における Sema3A と NGF の正常化がみられた。そう痒性疾患における Sema3A の投与・誘導の治療効果が示された。

研究成果の概要（英文）：Semaphorin-3A (Sema3A) expression was lower in pruritic skin disorders compared with the healthy samples, whereas nerve growth factor (NGF) expression was higher. Intranasal administration of recombinant Sema3A in the allergic rhinitis model mice alleviated symptoms. Oral administration of collagen tripeptide in dry skin model mice suppressed scratching behavior and corrected Sema3A and NGF balance.

In conclusion, we propose that administration and induction of Sema3A expression may useful to control the outgrowth of C-fibres, leading to pruritus, as a new therapeutic strategy for pruritic disorders.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚免疫・炎症学

### 1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎 (AD) のかゆみの機序については多くの研究がすすめられているが、そのひとつとして知覚神経の表皮内への伸長と増生がかゆみの閾値低下に関与することが知られている。セマフォリンは生体内の様々な生理学的現象に関与する反発性神経軸索ガイダンス分子であり、知覚神経の突起伸長を抑制することが知られている。その代表的な分子が分泌型の semaphorin 3A (以下 Sema3A) である。AD ではこの Sema3A の産生低下が知覚神経の表皮内伸長や増生に繋がる可能性が推察されている。近年 AD の神経の増生がみられる部位において表皮ケラチノサイトの Sema3A の発現が低下していることが報告された。さらにセマフォリンファミリーのうち Sema4A は Th1 細胞の分化に関与することが知られていたが、最近 Sema3A も T 細胞増殖抑制作用があることが報告されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、Sema3A を用いた AD およびその他の癢痒性皮膚疾患 (癢痒を伴う乾癬など) において、Sema3A の発現および既存の治療薬による Sema3A の発現の変化と治療効果との関係を明らかにする。また、Sema3A ノックアウトマウスを用いて Sema3A の神経学的、免疫学的役割を明らかにする。さらに、これまでに皮膚粘膜の神経に作用して知覚の閾値を正常化する治療薬は開発されていないことから、癢痒を伴う皮膚疾患および皮膚以外の癢痒を伴うアレルギー疾患 (鼻炎や結膜炎) に対する新規治療薬の開発を目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) ヒトの AD および乾癬、痒疹の治療において、痒みへの効果発現の違いが表皮 Sema3A、神経成長因子、およびそれらのレセプターの発現への効果とどのように関連するかを免疫抑制剤やステロイド薬その他の薬剤間で検討した。

(2) AD モデルマウスである NC/Nga マウスおよび乾皮症モデルマウスを用いて、既存の薬剤によるかゆみの抑制と表皮 Sema3A 発現および表皮内神経線維伸長への効果をみた。さらにこれらに影響を及ぼす薬剤として Sema3A 外用とコラーゲントリペプチド、低分子ヒアルロン酸の効果をみた。

(3) アレルギー性鼻炎モデルマウスを作成し Sema3A の点鼻の効果を検討した。具体的には BALB/c マウスに卵白アルブミン (OVA) を Alm とともに背部に投与して感作したのち、OVA を経鼻的に投与して鼻炎を誘発し、Sema3A の点鼻の効果を経験的、組織学的、免疫学的、神経学的に検討した。

(4). 既に作成されている Sema3A ノックアウトマウスを用いて急性および慢性皮膚炎の発症や臨床症状におよぼす Sema3A の影響を明らかにすることを試みた。

### 4. 研究成果

(1) AD、乾癬、痒疹の Sema3A、神経成長因子、およびそれらのレセプターの発現異常を認め、それらはステロイド薬や免疫抑制剤による治療により、痒みの軽快とともに正常化した (図 1)。

Sema3A mRNA expression

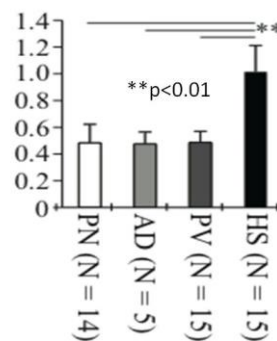


図1 痒疹、AD、乾癬における Sema3A 発現の低下

(2) 各種治療薬による表皮 Sema3A 発現と表皮内神経線維伸長への影響の検討では、NC/Nga で Sema3A の発現低下を確認した後、ステロイド薬、抗アレルギー薬、免疫抑制剤 (シクロスポリン) を連日 2 週間投与した。その結果、シクロスポリン投与マウスで他群と比較して搔破行動の低下とともに著しい神経伸長抑制と Sema3A の増加がみられた。Sema3A ノックアウトマウスは生存期間が短く、十分な検討が行なえず今後の課題となったが、皮膚自体に明らかな病理学的異常はみられなかった。

(3) アレルギー性鼻炎モデルマウスにおける Sema3A の点鼻の効果の検討では、鼻炎モデルマウスに、Sema3A を点鼻し、OVA 経鼻投与による症状の誘発にたいする抑制効果を検討した。その結果、くしゃみや鼻周囲の搔破行動が低下し、鼻粘膜組織の腫脹も軽減した (図 2)。さらに免疫組織学的染色により粘膜の神経線維を確認したところ、Sema3A 非投与群では鼻粘膜の神経伸長が観察されたが、Sema3A 投与群は著しい神経伸長抑制効果がみられた。これらの効果について、抗アレルギー薬やステロイド薬の点鼻と比較検討すると、Sema3A 投与群で最も神経伸長抑制効果がみられた。これらの結果は皮膚および粘膜でのかゆみと神経伸長の抑制における Sema3A の重要性を示すものであった。

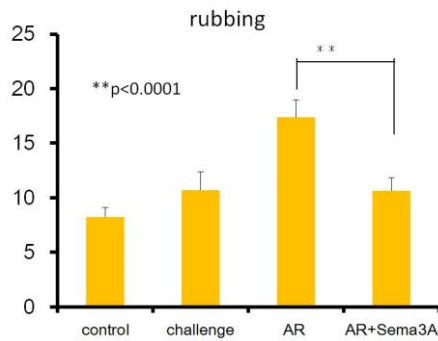


図2 Sema3Aの点鼻の効果

(4) Sema3A外用のADの痒みに対する治療効果についてNC/Ngaで表皮におけるSema3Aの発現低下と神経線維の表皮内伸長を確認した。次に、Sema3Aを含有した外用薬を作成しNC/Ngaマウスを用いてその効果を注射薬と比較検討した。その結果、Sema3Aを皮内注射したマウスでは皮疹の改善と搔破行動の低下がみられたが、同薬外用マウスではコントロールの白色ワセリンを塗布したマウスとを比較して有意な違いはみられなかった。これは外用薬の安定性に問題があるためと考えられた。

(5) コラーゲントリペプチド (CTP) によるADおよびドライスキンの癢痒における治療効果をSema3A発現誘導と表皮内神経線維伸長との関係において検討した。NC/Ngaマウスおよびアセトン誘発ドライスキンマウスを用いて、CTPの痒みおよび皮疹に対する効果をみた。その結果、ドライスキンマウスでは表皮内神経線維の減少、搔破行動の減少、Sema3Aの産生の増加、神経成長因子(NGF)の産生の減少を認めた。また、CTP内服により、真皮内のHyaluronan synthase 2の発現の増加、真皮内のヒアルロン酸の増加、TEWLの改善を認めた。これらはCTPの乾燥皮膚への有用性を示すものであった。ADモデルマウスにおける低分子ヒアルロン酸外用も痒みおよびSema3A発現にたいして効果を認めた。

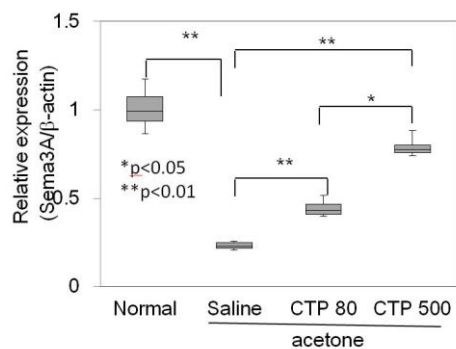


図3 乾皮症モデルマウスにおけるCTP内服のSema3A発現における効果

## 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7件)

- ① Fujita H, Inoue Y, Seto K, Komitsu N, Aihara M: Interleukin-37 is elevated in subjects with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*, 69:173-176, 2013. doi: 10.1016/j.jdermsci.2012.11.001. 査読有
- ② Takada S, Kou K, Nagashima Y, Ikezawa Z, Aihara M: Aberrant epidermal expression of semaphorin 3A and nerve growth factor in prurigo nodularis. *Journal of Dermatology*, 40, 2013 in press. doi: 10.1111/1346-8138.12085. 査読有
- ③ 五嶋良郎, 相原道子: セマフォリンを用いたアトピー性皮膚炎治療の可能性. *実験医学*, 31(4):488-494, 2013. <https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/book/9784758100939/> 査読なし
- ④ Kou K, Nakamura F, Aihara M, Chen H, Seto K, Komori-Yamaguchi J, Kambara T, Nagashima Y, Goshima Y, Ikezawa Z: Decreased Expression of Semaphorin-3A, a Neurite-Collapsing Factor, is Associated With Itch in Psoriatic Skin. *Acta Derm Venereol*, 92:521-528, 2012. doi: 10.2340/00015555-1350. 査読有
- ⑤ Okawa T, Yamaguchi Y, Takada S, Sakai Y, Numata N, Nakamura F, Nagashima Y, Ikezawa Z, Aihara M: Oral administration of collagen tripeptide improves dryness and pruritus in the acetone-induced dry skin model. *J Dermatol Sci*, 66(2):136-43, 2012. doi: 10.1016/j.jdermsci.2012.02.004. 査読有
- ⑥ Sawaki H, Nakamura F, Aihara M, Nagashima Y, Komori-Yamaguchi J, Yamashita N, Nakagawara M, Goshima Y, Ikezawa Z: Intranasal Administration of Semaphorin-3A Alleviates Sneezing and Nasal Rubbing in a Murine Model of Allergic Rhinitis. *J Pharmacol Sci*, 117:34-44, 2011. doi.org/10.1254/jphs.11005FP 査読有
- ⑦ Ikezawa Z, Komori J, Ikezawa Y, Inoue Y, Kirino M, Katsuyama M, Aihara M: A Role of Staphyococcus aureus, Interleukin-18, Nerve Growth Factor and Semaphorin 3A, an Axon Guidance Molecule, in Pathogenesis and Treatment of Atopic Dermatitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*,

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① Okawa T, Yamaguchi Y, Takada S, Sakai Y, Numata N, Nakamura F, Nagashima Y, Ikezawa Z, Aihara M : Oral administration of collagen tripeptide improves dryness and pruritus in the acetone-induced dry skin model. The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Loisir Hotel & Spa Tower Nara Pacific Hotel (Okinawa), 2012, 12, 8.
- ② Okawa T, Yamaguchi Y, Takada S, Sakai Y, Numata N, Nakamura F, Nagashima Y, Ikezawa Z, Aihara M : Oral administration of collagen tripeptide improves dryness and pruritus in the acetone-induced dry skin model. 22nd International Symposium of Itch, Bellesalle jimbocho (Tokyo), 2012, 10, 6.
- ③ 相原道子: ランチョンセミナー5 皮膚バリア機能が乳幼児アトピー性皮膚炎の発症におよぼす影響について. 第 42 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 軽井沢プリンスホテルウエスト(長野県), 2012, 7, 15.
- ④ Kou K, Nakamura F, Aihara M, Chin H, Seto K, Takada S, Komori-yamaguchi J, Kambara T, Nagashima Y, Goshima Y, Ikezawa Z : Decreased Semaphorin-3A Expression in the Lesional Skin of Patients with Psoriasis Vulgaris. The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto International Conference Center (Kyoto), 2011, 12, 10.
- ⑤ Takada S, Kou K, Nagashima Y, Ikezawa Z, Aihara M : Semaphorin3A expression is decreased in the epidermis of prurigo nodularis. The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, kyoto International Conference Center (Kyoto), 2011, 12, 10.
- ⑥ 相原道子 : 痒みのメカニズムから考えるアトピー性皮膚炎の治療戦略. 第 75 回日本皮膚科学会東部支部学術大会, ベイシア文化ホール(群馬県), 2011, 9, 18.
- ⑦ Sawaki H, Nakamura F, Aihara M, Nagashima Y, Nakazawa M, Goshima Y, Ikezawa Z : Intranasal administration of Semaphorin3A alleviates murine allergic rhinitis. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Wakayama Prefectural Cultural Hall(Wakayama), 2010, 10, 30.
- ⑧ Kou K, Nakamura F, Aihara M, Seto K, Komori J, Kambara T, Nagashima Y, Goshima Y, Ikezawa Z : Decreased expression of semaphorin3A in the lesional skin of psoriasis vulgaris with itch. 20th International Symposium of Itch, Tokyo station conference(Tokyo), 2010, 10, 30.
- ⑨ 澤城晴名, 中村史雄, 相原道子, 長嶋洋治, 池澤善郎, 五嶋良郎 : Semaphorin3A の経鼻投与が OVA 誘発性アレルギー性鼻炎に及ぼす効果の検討. 第 123 回薬理学会関東部会, 自治医科大学地域医療情報研修センター(栃木県), 2010, 10, 23.
- ⑩ Kou K, Nakamura F, Aihara M, Seto K, Kambara T, Nagashima Y, Goshima Y, Ikezawa Z : Correlation between Semaphorin3A expression and the itch intensity and severity in patients with psoriasis. 9th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology, Leonardo Hotel Weimar (German), 2010, 6, 10.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

相原 道子 (AIHARA MICHIKO)  
横浜市立大学・医学研究科・教授  
研究者番号：90231753

### (2) 研究分担者

五嶋 良郎 (GOSHIMA YOSHIO)  
横浜市立大学・医学研究科・教授  
研究者番号：00153750  
長嶋 洋治 (NAGASHIMA YOJI)  
横浜市立大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：10217995

### (3) 連携研究者

池澤 善郎 (IKEZAWA ZENRO)  
国際医療福祉大学・大学病院・教授  
研究者番号：90046128  
中村 史雄 (NAKAMURA HUMIO)  
横浜市立大学・医学部・准教授  
研究者番号：10262023