

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461665

研究課題名(和文) 難治性皮膚アレルギー疾患の病態に基づいた好塩基球を標的とした新規治療の開発

研究課題名(英文) An establishment of novel treatment based for the pathogenesis of untreated allergic skin diseases

研究代表者

横関 博雄 (Yokozeki, Hiroo)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：90210608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：難治性慢性痒疹は著明な痒みを主訴として比較的孤立性の強い丘疹が見られる疾患中高齢者に多い難治性疾患である。アトピー性皮膚炎においても痒疹結節が重症成人型アトピー性皮膚炎で認められることが多く非常に難治性である。我々の研究室では抗原特異的IgE遺伝子を導入したトランスジェニックマウスに大量抗原を同一の部位で惹起するで痒疹モデルマウスを樹立した(Immunity, 2005, Mukai K, J Immunol, 2015, Hasimoto T et al)。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)。

研究成果の概要(英文)：Prurigo nodularis, prurigo type atopic dermatitis is a chronic and untreated diseases. In order to investigate a mechanism for prurigo reaction, we have been established a mouse model for prurigo by using a TNP-IgE transgenic mice (Immunity, 2005, Mukai K, J Immunol, 2015, Hasimoto T et al). And we clarify that MT play a major role in the induction of IL-4 in basophils.

研究分野：皮膚科学

キーワード：好塩基球 痒疹 TH2サイトカイン M2マクロファージ STAT6 IgE プロテアーゼ 蕁麻疹

1. 研究開始当初の背景

難治性慢性痒疹は、著明な痒みを主訴として腎不全、肝障害、悪性腫瘍などを基礎疾患として比較的孤立性の強い丘疹が見られる疾患で結節性痒疹、慢性多型痒疹などに分類され中高齢者に多い難治性疾患である。特に慢性痒疹は皮膚科特定疾患として指定された難治性疾患であり非常に強い痒みにより、患者は様々な精神的苦痛を受ける。著明な痒みは仕事、勉強への悪影響のみならず正常生活へも支障をきたすなどであり、QOL、労働生産率を著しく低下させる。一方、アトピー性皮膚炎の皮膚病変においても痒疹結節が重症成人型アトピー性皮膚炎で認められることが多く非常に難治性である。慢性痒疹、アトピー性皮膚炎の痒疹反応の病態も依然明らかになっていない。この痒疹結節部には病理組織学的に好酸球、好塩基球が多数浸潤していることよりTh2反応が関与する可能性が考えられている。近年、抗原特異的IgE遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを抗原で惹起した後、即時型反応、遅発型反応の後惹起3～7日目に好酸球が著明に浸潤する第3相反応が認められ好塩基球がイニシエーター細胞として重要な役割を果たすし(Immunity, 2005)、この第3相反応は痒疹の臨床症状、病理組織反応に非常に類似することが明らかにされた。このマウスを用いて背部に大量の抗原の連続投与により痒疹のモデルマウス(図1, 2)が樹立できた。この痒疹モデルを解析して痒疹の発症機序を解析する(平成25-27年度)。また、近年、痒疹結節の皮膚病変部の免疫組織学的解析では好塩基球も多数浸潤することを明らかにした(Ito Y et al, Allergy, 2011)。

2. 研究の目的

中高齢者に多い難治性疾患である慢性痒疹・アトピー性皮膚炎の痒疹反応の発症機序を好塩基球の機能解析を主体としてまず痒疹の病変部、末梢血中の好塩基球の表面マーカーを解析、さらに皮膚の重症度との関連性を検討。一方、痒疹反応のモデルマウスとして抗原特異的IgE遺伝子導入マウスを用いて同一部位に大量の抗原投与による痒疹モデルマウスを作成して病態を解析する。In vitroでは好塩基球の活性化機序を解析するため亜鉛トランスポーター、メタロチオネン(MT)の機能解析、プロスタグランジンD2の産生機序および抗原特異的IgE遺伝子導入マウスの第3相反応における役割も解析して好塩基球を標的とした痒疹の新規治療法の開発を行う。

3. 研究の方法

モデルマウスを用いた各種難治性疾患における好塩基球の役割解析：抗原特異的IgE導入マウスの背部に大量の抗原を数回皮下投与することにより誘導した痒疹モデルマウス

スを用いての発症機序、痒疹反応との違いなどに関して各種サイトカイン、ケモカイン、接着因子、Th1, Th2, Th17細胞に関してRT-PCR法を用いてmRNAの発現、ELISAにて蛋白レベルの解析(Hashimoto T, J Immunol, 2015)

4. 研究成果

痒疹モデルマウスの病変部のサイトカインの発現を検討した結果、IL-4, IL13, IL-17などTh2サイトカインの発現が亢進していた。表皮も増殖していた。好酸球、好塩基球も浸潤していた。

考察：痒疹モデルマウスの解析の結果、痒疹の病変と同じサイトカイン、ケモカイン、炎症細胞浸潤が認められた。このモデルマウスを用いて新規治療法を開発することが可能となった。

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15件)

全てに査読有

1. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeiki H. Protective Role of STAT6 in Basophil-Dependent Prurigo-like Allergic Skin Inflammation. J Immunol. 2015 May 15;194(10):4631-40.
2. Okiyama N, Hasegawa H, Oida T, Hirata S, Yokozeiki H, Fujimoto M, Miyasaka N, Kohsaka H. Experimental myositis inducible with transfer of dendritic cells presenting a skeletal muscle C protein-derived CD8 epitope peptide. Int Immunol. 2015 Jul;27(7):327-32.
3. Ugajin T, Nishida K, Yamasaki S, Suzuki J, Mita M, Kubo M, Yokozeiki H, Hirano T. Zinc-binding metallothioneins are key modulators of IL-4 production by basophils. Mol Immunol. 2015 Aug;66(2):180-8.
4. Ugajin T, Takahashi M, Miyagishi C, Takayama K, Yokozeiki H. A case of bullous pemphigoid associated with infiltration and activation of basophils. Br J Dermatol. 2015 Oct;173(4):1095-8.
5. Dobashi K, Akiyama K, Usami A, Yokozeiki H, Ikezawa Z, Tsurikisawa N, Nakamura Y, Sato K, Okumura J. Japanese Guideline for Occupational Allergic Diseases 2014. Committee for Japanese Guideline for Diagnosis and Management of Occupational Allergic Diseases; Japanese Society of Allergology. Allergol Int. 2014 Sep;63(3):421-42. doi: 10.2332
6. Yokozeiki H. [The research for atopic dermatitis: up to date]. Nihon Rinsho.

- 2014 Aug;72(8):1503-9. Review. Japanese.
7. Igawa K, Kokubu C, Yusa K, Horie K, Yoshimura Y, Yamauchi K, Suemori H, Yokozeiki H, Toyoda M, Kiyokawa N, Okita H, Miyagawa Y, Akutsu H, Umezawa A, Katayama I, Takeda J. Removal of reprogramming transgenes improves the tissue reconstitution potential of keratinocytes generated from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Transl Med.* 2014 Sep;3(9):992-1001. doi: 10.5966/sctm.2013-0179.
 8. Yokozeiki H. A nucleic acid-based medication for allergic skin diseases. *J Dermatol Sci.* 2014 Aug;75(2):75-81. doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.03.003.
 9. Higuchi T, Satoh T, Yokozeiki H. Using CD40 ligand expression to detect antigen-specific T cells in patients with drug eruptions. *Acta Derm Venereol.* 2014 Jan;94(1):86-7. doi: 10.2340/00015555-1617.
 10. Ugajin T, Takahashi M, Miyagishi C, Takayama K, Yokozeiki H. A case of bullous pemphigoid associated with infiltration and activation of basophils. *Br J Dermatol.* 2015 Apr 27. doi: 10.1111/bjd.13875. [Epub ahead of print]
 11. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeiki H. Protective Role of STAT6 in Basophil-Dependent Prurigo-like Allergic Skin Inflammation. *J Immunol.* 2015 May 15;194(10):4631-40
 12. Satoh T, Ikeda H, Yokozeiki H. Acrosyringial Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis. *Acta Derm Venereol.* 10;93(1).2013.
 13. Higuchi T, Satoh T, Yokozeiki H. Using CD40 Ligand Expression to Detect Antigen-specific T Cells in Patients with Drug Eruptions. *Acta Derm Venereol.* 2014 Jan;94(1):86-7.
 14. Saeki K, Satoh T, Yokozeiki H. (1,3) Fucosyltransferases IV and VII are essential for the initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation. *J Invest Dermatol.* 2013 Sep;133(9):2161-9.
 15. Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeiki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2 : therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. *Immunology.* 2013 Sep;140(1):78-86.
- 〔学会発表〕(計 15 件)
1. Igawa K. et al. Removal of reprogramming transgenes improves the tissue reconstitution potential of keratinocytes generated from human induced pluripotent stem cells. 23rd World Congress of Dermatology 2015, Vancouver Canada. 8-13/6/2015
 2. Igawa K. et al. A trial to clarify the effect of the filaggrin gene mutation to keratinocytes biology by using CRISPR/Cas9 system and human induced pluripotent stem cells. ESDR2015, Rotterdam, Netherlands. 9-12/9/2015
 3. 横関 博雄: 皮膚アレルギー研究アップデート 花粉症皮膚炎 第 119 回日本眼科学会総会 2015 年 4 月 16 - 19 日 ロイトン札幌(北海道・札幌市) 招待講演
 4. 横関 博雄: 汗とアレルギー. 第 64 回日本アレルギー学会学術大会 2015 年 5 月 26-28 日 グランドプリンスホテル新高輪(東京・港区) シンポジウム レビュートーク
 5. 横関 博雄: 接触皮膚炎 花粉皮膚炎のアップデート. 第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2015 年 11 月 20 - 22 日 島根県民会館(島根・松江市)
 6. 宇賀神 つかさ, 高橋 道央, 高山 かおる, 横関 博雄: 好塩基球の病態関与が示唆される水疱性類天疱瘡の 1 例. 第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2015 年 11 月 20 - 22 日 島根県民会館(島根・松江市)
 7. 横関 博雄: 外用剤、貼付薬による接触皮膚炎の現況: 接触皮膚炎診療ガイドラインに沿って, 第 38 回日本皮膚小児皮膚科学会学術大会, 2014 年 7 月 6 日, セルリアンタワー東急ホテル(東京・渋谷区)
 8. 端本宇志, 佐藤貴浩, 横関 博雄: 好塩基球と IgE により誘発されるマウス痒 疹反応におけるそう痒と病変部表皮内神経伸長, 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2014 年 5 月 9 日, 国立京都国際会館(京都府・京都市)
 9. 野老翔雲, 井川 健, 戸倉新樹, 宮地良樹, 片山一朗, 佐藤貴浩, 横関 博雄: アトピー性皮膚炎の病型と難治性皮膚病変の関連に関する疫学調査, 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2014 年 5 月 9 日, 国立京都国際会館(京都府・京都市)
 10. 芝間さやか, 宇賀神つかさ, 横関 博雄: 当科を受診した小麦アレルギー患者のまとめ, 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2014 年 5 月 9 日, 国立京都国際会館(京都府・京都市)
 11. 横関 博雄: 「アトピー性皮膚炎の病態と新規治験法」第 6 回 NAGASAKI DERMATOLOGY FORUM, 2013 年 7 月 4 日, ホテルニュー長崎(長崎県・長崎市)

12. IGAWA K., HORIE K., YUSA K., YOKOZEKI H., KATAYAMA I., TAKEDA. J.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. International Investigative Dermatology. 8th - 11th May 2013, Edinburgh, Scotland
13. IGAWA K.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. 第8回箱根カンファレンス 2013年8月24、25日 夢舞台(兵庫県・淡路島).
14. Saeki K., Satoh T., Yokozeki H. : Basophils require interaction with CD49b(+)/c-kit(+) cells through L-selectin for induction of immunoglobulin E-mediated chronic allergic inflammation. 第42回日本免疫学会学術集会. 2013.12.11. 幕張メッセ (千葉県・千葉市).
15. 西田圭吾、宇賀神つかさ、山崎哲、鈴木純子、三田征治、久保允人、横関博雄、平野俊夫: 亜鉛結合蛋白は好塩基球のサイトカイン産生を調節する. 第9回メタルバイオサイエンス研究会 2013.9.26. 静岡県立大学(静岡県・静岡市).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横関 博雄 (YOKOZEKI, Hiroo)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・
教授

研究者番号：90210608

(2) 研究分担者

井川 健 (IGAWA, Ken)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・
准教授

研究者番号：00372441