

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670287

研究課題名(和文)新規アトピー性皮膚炎モデルを用いた掻痒惹起メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism for itch induction by using a novel mouse model of atopic skin inflammation

研究代表者

福井 宣規 (Fukui, Yoshinori)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：60243961

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：掻破行動を伴う重篤なアトピー様皮膚炎を自然発症する新しい疾患モデルを作製した。このマウスの皮膚に浸潤している炎症細胞の主体はCD4+ T細胞であり、刺激に伴い、大量のIL-31を産生した。そこで、IL-31受容体を構成するオンコスタチンM受容体のノックアウトマウスとの交配をし、疾患発症におけるIL-31シグナルの重要性を実証した。さらに、詳細な遺伝子発現解析を行い、IL-31の産生に重要なマスター制御分子を同定した。

研究成果の概要(英文)：We have developed a novel mouse model that spontaneously causes atopic skin inflammation with severe scratching behavior. The majority of infiltrating cells were CD4+ T cells, and they produced a large amount of IL-31 upon stimulation. By crossing these mice with mice lacking oncostatin M receptor, we have shown that IL-31 signaling plays a key role in the disease development. In addition, we have identified a molecule critical for IL-31 production by CD4+ T cells.

研究分野：免疫細胞生物学

キーワード：シグナル伝達 生体分子 細胞・組織

### 1. 研究開始当初の背景

痒みは生体恒常性の破綻の結果生じる最も不快な感覚の一つであり、国民の7~15%がアトピー性皮膚炎に罹患しているという現状を鑑みると、その対策は急務である。痒み研究はこれまで、ヒスタミンを中心に進んできたが、アトピー性皮膚炎の痒みの多くは H1 ヒスタミン受容体遮断薬では抑制されないことから、別の搔痒惹起物質の存在が示唆されてきた。このような中、IL-31 を発現するトランスジェニックマウスや IL-31 を投与したマウスにおいて、搔破行動を伴うアトピー様病態が自然発症することが報告され (Nature Immunol. 5:752, 2004)、IL-31 は現在最も注目されている搔痒惹起物質の候補となっている。IL-31 は主に T 細胞から産生され、その受容体は脊髄後根神経節 (DRG) に高発現することが報告されているが、その産生制御機構や感知機構の詳細は依然として不明である。

### 2. 研究の目的

研究代表者は最近、アトピー性皮膚炎の新しい疾患モデルマウスとして、mutDOCK8 を開発した。本研究では、新しいマウスモデルの解析を通じて、1) IL-31 の搔痒惹起における重要性や 2) その産生制御機構を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

- IL-31 の受容体は、IL-31 受容体  $\alpha$  サブユニットとオンコスタチン M 受容体のヘテロダイマーから構成される。そこで各受容体のノックアウトマウスを用いて、mutDOCK8 マウスの搔破行動における IL-31 シグナルの関与を明らかにする。
- IL-31 の発現をモニターできるレポーターマウスを作製する。このレポーターマウスはホモ接合体では IL-31 ノックアウトマウスとなることから、mutDOCK8 マウスの搔破行動における IL-31 の役割を明確にする。
- mutDOCK8 マウスの T 細胞が刺激に伴い、大量の IL-31 を産生する事を確認している。そこで、mutDOCK8 で発現が上昇あるいは低下する遺伝子を網羅的に探索し、野生型あるいは mutDOCK8 マウスの T 細胞に遺伝子導入することで、IL-31 の産生に重要なマスター制御因子候補を同定する。
- 上記で同定した候補分子の重要性を、

siRNA を用いてスクリーニングする。必要に応じて、ノックアウトマウスを用いた検証実験を実施する。また、機能ドメインを同定し、それに会合する分子を網羅的に探索することで、シグナル経路の全貌を解明する。

### 4. 研究成果

- 搔破行動を伴う重篤なアトピー様皮膚炎を自然発症する新しいモデルマウスを開発した。皮膚に浸潤している炎症細胞の主体は CD4+ T 細胞であり、刺激にともない、大量の IL-31 を産生することを見いだした。そこで、IL-31 受容体を構成するオンコスタチン M 受容体のノックアウトマウスとの交配をし、疾患発症における IL-31 シグナルの重要性を実証した。
- 詳細な遺伝子発現解析を行い、IL-31 の産生に重要なマスター制御分子を同定すると共に、そのノックアウトマウスを開発した。
- IL-31 のプロモーターの下流、第 1 エクソンを GFP で置換したマウスを開発した。このマウスはレポーターマウスとしては機能しなかったが、ホモ接合体では IL-31 の産生が完全にキャンセルされることを確認した

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

- Yanagihara T, Sanematsu F, Sato T, Uruno T, Duan X, Tomino T, Harada Y, Watnabe M, Wang Y, Tanaka Y, Nakanishi Y, Suyama M, Fukui Y: Intronic regulation of Aire expression by Jmjd6 for self-tolerance induction in the thymus. **Nature Commun.**, 6:8820, 2015 (査読有)  
(DOI:10.1038/ncomms9820)
- Sreeramkumar V, Adrover JM, Ballesteros I, Cuartero MI, Rossaint J, Bilbao I, Nacher M, Pitaval C, Radovanovic I, Fukui Y, McEver RP, Filippi M-D, Lizasoain I, Ruiz-Cabello J, Zarbock A, Moro MA, Hidalgo A: Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation. **Science** 346:1234-1238, 2014 (査読有)

(DOI:10.1126/science.1256478)

3. Ogawa K, Tanaka Y, Urano T, Duan X, Harada Y, Sanematsu F, Yamamura K, Terasawa M, Nishikimi A, Côté JF, Fukui Y: DOCK5 functions as a key signaling adaptor that links FcεRI signals to microtubule dynamics during mast cell degranulation. **J. Exp. Med.** 211: 1407-1419, 2014 (査読有)  
(DOI:10.1084/jem.20131926)
4. Moalli F, Cupovic J, Thelen F, Halbherr P, Fukui Y, Narumiya S, Ludwig B, Stein JV: Thromboxane A2 acts as tonic immunoregulator by preferential disruption of low-avidity CD4<sup>+</sup> T cell-dendritic cell interactions. **J. Exp. Med.** 211:2507-2517, 2014 (査読有)  
(DOI:10.1084/jem.20140137)
5. Watanabe M, Terasawa M, Miyano K, Yanagihara T, Urano T, Sanematsu F, Nishikimi A, Côté JF, Sumimoto H, Fukui Y: DOCK2 and DOCK5 act additively in neutrophils to regulate chemotaxis, superoxide production, and extracellular trap formation. **J. Immunol.** 193:5660-5667, 2014 (査読有)  
(DOI:10.4049/jimmunol.1400885)
6. Wen Y, Elliott MJ, Huang Y, Miller TO, Corbin DR, Hussain L-R, Ratajczak MZ, Fukui Y, Ildstad ST: DOCK2 is critical for CD8<sup>+</sup>TCR<sup>-</sup> graft facilitating cells to enhance engraftment of hematopoietic stem and progenitor cells. **Stem Cells** 32:2732-2743, 2014 (査読有)  
(DOI:10.1002/stem.1780)
7. Damoulakis G, Gambardella L, Rossman K, Lawson C, Anderson K, Fukui Y, Welch H, Der C, Stephens L, Hawkins P: P-Rex1 directly activates RhoG to regulate GPCR-driven Rac signalling and actin polarity in neutrophils. **J. Cell Sci.** 127:2589-2600, 2014 (査読有)  
(DOI:10.1242/jcs.153049)

[学会発表] (計 7 件)

1. Shiraishi A, Fukui Y: Critical role of DOCK8 in nucleokinesis during macrophage migration. The 44rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2015年11月18日-20日、札幌
2. Ushijima M, Fukui Y: B cell-intrinsic role of DOCK2 in T cell-dependent humoral immunity. The 44rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2015年11月18日-20日、札幌
3. 福井 宣規: マスト細胞の脱顆粒反応における DOCK5 の役割とその制御機構. 第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015年5月26日-28日、東京
4. Fukui Y: A novel mechanism controlling Aire protein expression in the thymus. The Fourth BIZAN Immunology Symposium, 2015年1月29日-1月30日、徳島
5. Fukui Y: Critical roles of DOCK family proteins in migration and activation of leukocytes. Keystone Symposium, 2015年1月13日-1月18日、Vancouver, Canada
6. Harada Y, Fukui Y: The role of DOCK8 in migration and activation of effector CD4<sup>+</sup> T cells during immune responses. The 43rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2014年12月10日-12月12日、京都
7. Yanagihara T, Watanabe M, Fukui Y: Identification of a novel molecule essential for Aire expression and self-tolerance. The 43rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 2014年12月10日-12月12日、京都

[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

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/iden/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福井 宣規 (FUKUI Yoshinori)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：60243961