

誘導型好塩基球特異的欠損マウスの樹立と応用

東京医科歯科大学大学院・免疫アレルギー学 鳥山 一

前年度の研究で、マウス好塩基球の分泌顆粒に特異的に存在するプロテアーゼ mMCP-8 に対するモノクローナル抗体を作製し、皮膚疾患モデルマウスの皮膚に浸潤している好塩基球を特異的に検出することが可能となった。しかし、マスト細胞の場合と違って、好塩基球のみを欠損するモデルマウスが存在しないため、浸潤している好塩基球の機能を解析することは不可能であった。これまでの研究で好塩基球除去抗体として用いられている抗 FcεRI 抗体 (MAR-1) と抗 CD200R3 抗体 (Ba103) は、いずれもマスト細胞と反応するため、好塩基球除去抗体処理マウスは真の意味での好塩基球欠損マウスとは言い難く、マスト細胞への副作用の可能性を常に考慮しなければならなかった。この問題を解決するために本年度は、好塩基球のみを欠損する遺伝子改変マウス *Mcpt8*^{DTR} を作製した。mMCP-8 をコードする *Mcpt8* 遺伝子座にジフテリア毒素受容体遺伝子を挿入したノックインマウスを作製したところ、好塩基球のみにジフテリア毒素受容体が発現し、マウスへのジフテリア毒素の注射によって好塩基球のみが除去されることが判明した。これにより、痒痒を含む皮膚疾患における好塩基球の役割を解析することが可能となった。

蚊アレルギー性痒痒反応誘発セリンプロテアーゼ遊離関連細胞に関する研究

富山大学 大学院医学薬学研究部 応用薬理学

安東嗣修

これまでに、我々は蚊アレルギー性痒痒反応に CD4+T 細胞とその遊離因子の一つであるセリンプロテアーゼが関与する可能性を明らかにした。本研究では、更に CD4+T 細胞がどのような機序でセリンプロテアーゼの遊離を促進しているか、また、その他皮膚内セリンプロテアーゼ含有細胞好塩基球の関与に関して検討した。

【研究方法】実験には、蚊唾液腺抽出物 (ESGM) で感作した雄性 ICR 系マウスを用いた。痒み反応は、掻き動作数のカウントにより評価した。CD4+T 細胞は、皮膚より単離した細胞群よりキットを用いて精製した。皮膚の好塩基球の染色は、TUG8 (東京医歯大・烏山教授より提供) を用いて行なった。

【結果と考察】膜リン脂質代謝物リポキシン A4 (LXA4) の産生が蚊アレルギー反応を生じている皮膚で増加する。皮膚から単離した CD4+T 細胞には、LXA4 受容体 (LXR) が発現していた。LXA4 の皮内注射で誘発した掻き動作は、プロテアーゼ活性化受容体 2 (PAR2) の拮抗薬で抑制された。従って、PAR2 活性を促進するセリンプロテアーゼの CD4+T 細胞からの遊離には、蚊アレルギー反応で産生される LXA4 を介していることが示唆される。次に、セリンプロテアーゼを遊離する皮膚内細胞の一つとして好塩基球に着目した。ESGM 感作マウスの皮膚では、非感作マウス皮膚と比べると好塩基球の増加が観察された。好塩基球から遊離されるセリンプロテアーゼ (mMCP-11 など) がアレルギー性の痒み発生に関与している可能性がある。

新規アトピー性皮膚炎マウスの確立と痒みの評価

京都大学大学院医学研究科 梶島健治

近年 20-50%のアトピー性皮膚炎患者において、フィラグリン変異に伴うバリア機能の低下が見出されている。我々は、ヒトと同様にフィラグリンに変異を有する flaky tail マウスの観察を行った。

SPF 環境下においても高週齢になると自然の皮膚炎を発症した。また、ダニ抗原を塗布するとより早く皮膚炎症状を誘発し、IgE 上昇なども認め、ヒトのアトピー性皮膚炎と類似の症状を呈した。

さらに、本マウスの搔破行動を SCLABA Real を用いて評価したところ、野生型マウスに比べ、搔破回数、搔破の持続時間共に延長していることが認められた。

以上より、flaky tail マウスは、マウスの新規アトピー性皮膚炎モデルとして有効であることが示唆され、今後、新規薬剤の評価などにおいて有用なツールとなることが期待される。

温度による痒み誘発メカニズムの解明にむけて

室田浩之、Abd El-Latif MI,片山一朗 (大阪大学皮膚科)

【背景】「痒み」は皮膚疾患の有無に関わらず多くの人々を悩ませる症状である。特に「温もると痒い」という訴えはアレルギー皮膚疾患罹患者および高齢者の皮膚瘙癢症などで頻繁に聞かれる訴えであるにも関わらず難治である。温度が誘発する痒みの分子メカニズムを解明することが全く新しい痒み治療の開発に貢献すると考えられる。私たちはアトピー性皮膚炎病変部真皮に蓄積している神経栄養因子アーテミン (artemin) が、温度と痒みの受容体 TRPV1 を強発現させることを見いだした。このことから artemin は TRPV1 の発現調節あるいは増感因子として「温もると痒い」症状を引き起こしている可能性が示唆される。

【目的】温度によって誘発される痒みに artemin が関与するかを検討する。

【方法】野生型マウスに artemin を皮下注射することで、1) 温度痛覚過敏、2) 温熱刺激による搔破行動、が誘発されるかを検討した。さらに artemin の受容体である GFRa3 KO マウスに compound48/80 処理をして瘙癢が誘発されるかを検討した。

【結果】artemin は温度痛覚過敏を誘発した。GFRa3KO マウスは compound 48/80 による搔破行動を示さなかった。

【考察】artemin は皮膚の温度過敏および痒みの誘発に関与すると考えられた。皮膚瘙癢症の新たな標的分子として期待が寄せられる。

慢性痒疹病変における IL-4、IL-17、IL-22、IL-31 発現の検討

分担研究者 戸倉新樹 産業医科大学皮膚科学教授

分担協力者 朴 紀央 産業医科大学病院助教

森 智子 産業医科大学皮膚科学助教

慢性痒疹 7 例、尋常性乾癬 7 例、正常皮膚 5 例について、real-time RT-PCR 法により、皮膚での IL-4、IL-17、IL-22、IL-31 発現を検討した。また慢性痒疹患者では末梢血単核球中の Th17 細胞割合も測定した。正常皮膚に比べ、慢性痒疹病変では 4 つのサイトカインとも高い発現を示し、乾癬病変では IL-17 と IL-22 が高発現であった。慢性痒疹における IL-4 と IL-31 の発現には有意に正の相関が存在し、既に報告されているように Th2 細胞が病変に関わることに加え、かゆみのサイトカインである IL-31 も病態に関わることを示唆された。IL-17 と IL-22 は Th17 細胞が産生するが、Th17 細胞の末梢血単核球での割合は乾癬同様、慢性痒疹患者でも増加していた。IL-22 は角化細胞の増殖性サイトカインであり、乾癬において表皮肥厚に関与するが、慢性痒疹でも表皮の肥厚を誘導していることが示された。以上より、慢性痒疹では、IL-4/IL-31 の Th2-かゆみサイトカインと、IL-17/IL-22 の Th17 サイトカインの両方が働いていることが示唆された。

Park K, Mori T, Nakamura M, Tokura Y: Increased expression of mRNAs for IL-4, IL-17, IL-22 and IL-31 in skin lesions of subacute and chronic forms of prurigo. *Eur J Dermatol* (in press).

ヒト皮膚疾患における好塩基球浸潤の検討

伊藤勇一、佐藤貴浩、高山かおる、横関博雄

東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野

好塩基球がマウス IgE 依存性慢性アレルギー反応やマダニに対する排除機構において重要な役割をはたすことが近年示されているが、ヒト皮膚疾患における好塩基球の重要性についてはほとんど知見がない。昨年引き続き、各種皮膚疾患における病変部の好塩基球の浸潤について免疫組織学的に検討した。対象は 24 疾患、136 例である。好塩基球浸潤が目立つ病変はアトピー性皮膚炎のダニ抗原貼付部位、痒疹、蕁麻疹、水疱性類天疱瘡、そしてアナフィラクトイド紫斑であった。最も多く好塩基球浸潤がみられたのは好酸球性毛包炎であり、その密度は好酸球と同等であった。またトコジラミ刺症、疥癬の病変部においても好塩基球が比較的多くみられたが、シュルツェマダニ症の病変では少なかった。体部白癬においても少数の好塩基球がみられた一方、乾癬、腫瘍性病変周囲、SLE、強皮症などでは全く認められなかった。今後、好塩基球の役割を考えるうえで有用なデータと考えている。

