

- 尚夫、高石喜久. 苦参由来 IL-4 遺伝子発現抑制物質. 第 28 回和漢医薬学会学術大会 (富山県民会館、富山市), 2011.
- 7) 福井裕行. 疾患感受性遺伝子と細胞内創薬ターゲット. 明治薬科大学ハイテクリサーチセンター特別講演会: 次世代のゲノム創薬を目指して (明治薬科大学清瀬キャンパス、清瀬市), 2011.
- 8) 福井裕行. 疾患感受性遺伝子の発現抑制によるアレルギー疾患治療戦略. 特別講演、第 15 回日本ヒスタミン学会 (盛岡グランドホテル、盛岡市), 2011.
- 9) 寺尾拓馬、水口博之、池田光広、北村嘉章、武田憲昭、福井裕行. トヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子発現メカニズムの解明. 第 15 回日本ヒスタミン学会 (盛岡グランドホテル、盛岡市), 2011.
- 10) 福井裕行、北村嘉章、水口博之、黒田若奈、武田憲昭. 花粉症におけるアレルギー疾患感受性遺伝子群. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール、東京都), 2011.
- 11) 水口博之、Shrabanti Dev、Asish K Das、馬場嘉信、福井裕行. 和漢薬苦参は FAT10 遺伝子発現の抑制を介してアレルギー症状を緩和する. 第 120 回日本薬理学会近畿部会 (ホテルグランビア京都、京都市), 2011.
- 12) 成相祐希、水口博之、永井浩章、金山知代、加藤周平、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. 苦参由来新規抗アレルギー成分 maackiain の単離、合成および作用機序に関する研究. 第 50 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会 (サンポートホール高松・かがわ国際会議場、高松市), 2011.
- 13) 福井裕行、水口博之. Allergic disease sensitive gene group in pollinosis. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (幕張メッセ、千葉市), 2011.
- 14) 福井裕行. アレルギー疾患症状発現の病理機構と創薬ターゲット. 第 126 回日本薬学会中国四国支部例会 (徳島大学青藍会館、徳島市), 2012.
- 15) Hiroyuki Fukui. Suppression of allergic disease sensitive gene expression by Maackiain, a novel lead for the therapeutics of allergy. Plenary Lecture, 12th International Congress of Ethnopharmacology (Science City, Kolkata, India), 2012.
- 16) Masashi Hattori, Hiroyuki Mizuguchi, Chiyo Matsushita, Hitoshi Niino, Yuko Sagesaka, Keisuke Masuyama, Hiroyuki Fukui. Identification of anti-allergic compound from green tea that suppresses the expression of histamine H<sub>1</sub> receptor gene. 12th International Congress of Ethnopharmacology (Science City, Kolkata, India), 2012.
- 17) Sayaka Yamamoto, Hiroyuki Mizuguchi, Islam Mohammed Nurul, Masum Shahriar, Pichairajan Venkatesh, Kazutaka Maeyama, Pulok K. Mukherjee, Masashi Hattori, Mohamed Sahabuddin Kabir Choudhuri, Noriaki Takeda, Hiroyuki Fukui. Albizia Lebbeck alleviated allergy symptom by inhibiting histamine signaling at the transcriptional level. 12th International

Congress of Ethnopharmacology (Science City, Kolkata, India), 2012.

18) Hiroyuki Fukui. Allergic disease sensitive gene. Lecture, 2nd

International Seminar on Recent Development in Pharmaceutical Education and Research. (Calcutta Institute of Pharmaceutical Technology and Allied Science, West Bengal, India), 2012.

19) Hiroyuki Mizuguchi, Hiroyuki Fukui. Exploring the drug targets using natural resources-derived anti-allergic compounds that suppress up-regulation of allergic diseases sensitive gene expression. シンポジウム : Frontier of intracellular drug target research、第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都) , 2012.

20) 成相祐希、水口博之、永井浩章、金山知代、加藤周平、吉村好之、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. Identification of the target molecule of the new anti-allergic compound, maackiaain from Kujin. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都) , 2012.

21) 永井浩章、水口博之、成相祐希、吉村好之、武田憲昭、福井裕行. Apigenin suppresses histamine H<sub>1</sub> receptor gene expression by interaction with HSP90. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都) , 2012.

22) 菅原健太、菱沼滋、福井裕行、庄司優. Thermodynamic binding properties of agonists and antagonists at human histamine H<sub>1</sub> receptors in Chinese

hamster ovary cells. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都) , 2012.

23) 水口博之、Shrabanti Dev、Asish K Das、馬場嘉信、福井裕行. 和漢薬苦参はヒスタミンシグナル抑制を介した FAT10 /NF- $\kappa$ B シグナルの抑制により抗アレルギー作用を示す。日本薬学会第 132 年会 (北海道大学、札幌) , 2012.

24) 大保木啓介 2011 年 10 月 29 日 APAPARI 2010&第 48 回 JASPACI (第 16 回アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学会、第 48 回日本小児アレルギー学会合同大会) 福岡 Joint Symposium 10, IL-33 and airway inflammation

25) 大保木啓介 2011 年 12 月 11 日 第 3 回 IAA (Innovative Asthma Association) 研究会 東京台場 特別講演 ; IL-33 と気道炎症

26) Nakayama M, Takeda K, Kawano M, Takai T, Ishii N, Ogasawara K. Natural killer (NK)-dendritic cell interactions generate MHC class II-dressed NK cells that regulate CD4<sup>+</sup> T cells. 第 40 回 日本免疫学会総会, 千葉 2011 年 11 月

27) Kawano M, Kumagai K, Kobayashi H, Nakayama M, Suzuki R, Ogasawara K: Investigation of metal allergy using muse model. 第 40 回 日本免疫学会総会, 千葉 2011 年 11 月

28) 有信 洋二郎 IL-25 レセプター発現好酸球前駆細胞のアレルギー性炎症における役割 第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2011、神戸

29) 續 啓史、有信 洋二郎、太田 昭一郎、出原 賢治、大田 俊一郎、Jabbazadeh Tabrizi Siamak、井上 靖、新納 宏昭、

- 塚本 浩、堀内 孝彦、赤司 浩一 好酸球前駆細胞特異的な IL-25 受容体発現の意義の解明 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術集会、2011、東京
- 30) 出原賢治. Bacteriology の核酸検査の現状と今後の方向性. 第 6 回九州遺伝子診断研究会 (基調講演) . 2011, 長崎
- 31) Izuhara K. Importance of the interaction between immune cells and non-immune cells in the pathogenesis of allergic diseases. Seminar at the Department of Molecular Biomedicine, Centro de Investigacion Y de Estudios Avanzados Del I.P.N.(Seminar). 2011, Mexico City (Mexico)
- 32) Izuhara K. Elucidation of the molecular mechanism underlying the pathogenesis of allergic diseases. Keynote Lecture at the Mexican Society of Immunology (Plenary Lecture). 2011, Mexico City (Mexico)
- 33) Izuhara K. Application of PCR methods: Bacteriology. IFCC C-CMBC Committee Activity in Guatemala “MOLECULAR DIAGNOSTICS FOR BEGINNERS” (Lecture). 2011, Guatemala City (Guatemala)
- 34) Izuhara K. Pharmacogenetics. IFCC C-CMBC Committee Activity in Guatemala “MOLECULAR DIAGNOSTICS FOR BEGINNERS” (Lecture). 2011, Guatemala City (Guatemala)
- 35) 出原賢治. ペンドリンと気道炎症. 第 84 回日本内分泌学会 (シンポジウム) . 2011, 神戸
- 36) 太田昭一郎, 東義則, 柴田瑠美子, 中尾佳史, 小野純也, 野口保彦, 岩坂剛, 出原賢治. アレルギー疾患の新規バイオマーカーとしての SCCA –アレルギー疾患におけるこの医療の実現に向けて-. 第 51 回日本臨床化学会年次学術集会 (シンポジウム) . 2011, 札幌
- 37) 有馬和彦, 出原賢治. 細胞外マトリックスを介したアトピー性皮膚炎の病態形成. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (シンポジウム) . 2011, 東京
- 38) Izuhara K. Pendrin and Airway Inflammation. ESF Exploratory Workshop on the Proteomics, Epigenetics, and Pharmacogenetics of Pendrin 2011 (Workshop). 2011, Leogang (Austria)
- 39) Uchida M, Shiraishi H, Okamoto M, Hoshino T, Sagara H, Aizawa H, Hayashi S, Izuhara K. Periostin is a critical mediator for acute lung injury induced by chemotherapeutic agents. 2011 American Thoracic Society International Conference. 2011, Denver (USA)
- 40) Ohta S, Shibata R, Nakao Y, Azuma Y, Taniguchi K, Arima K, Suzuki S, Shiraishi H, Iwasaka T, Izuhara K. Development of Combined Measurement of Squamous Cell Carcinoma Antigens 1 and 2 as a Potential Companion Diagnostic for Anti-IL-4/IL-13 Therapies in Allergic Diseases. 21st IFCC International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2011, Berlin (Germany)
- 41) Kotobuki Y, Otsuka K, Shiraishi H, Serada S, Kudo A, Conway SJ, Katayama

I, Izuhara K, Naka T. Periostin, a matricellular protein, accelerates wound repair by activating dermal fibroblasts. Keystone Symposia. 2012, Big Sky (USA)

学法人佐賀大学他. 発明者 出原賢治、白石裕士他

#### H. 知的財産権の出願登録状況

##### 1. 特許取得

1) 鼻過敏症予防・治療剤、発明者：福井裕行、武田憲昭、水口博之、出願人：徳島大学、特願 2012-040703、出願日：平成24年2月27日

2) 制御性 T 細胞の製造方法（特開 2010-004853）

3) アトピー素因判定マーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー及びそれらの使用法（特開 2010-207200）

4) ペリオスチンの特定領域に結合する抗体、並びにこの抗体を用いるペリオスチンの測定方法、測定試薬及び正確性の改善方法（特願 2011-194323）。出願日 2011年9月6日。出願人 国立大学法人佐賀大学他。発明者 出原賢治、白石裕士他

5) 慢性副鼻腔炎の検査方法（特願 2011-238913）。出願日 2011年10月31日。出願人 国立大学法人佐賀大学他。発明者 出原賢治、白石裕士他

6) 気管支喘息の予防又は治療薬及びそのスクリーニング方法（特願 2012-011838）。出願日 2012年1月24日。出願人 国立大学法人佐賀大学他。発明者 出原賢治、白石裕士他

7) ペリオスチンの特定領域に結合する抗体、この抗体を用いるペリオスチンの測定方法、測定試薬及び正確性の改善方法、並びに疾患の検査方法（特願 2012-077774）。出願日 2012年3月29日。出願人 国立大

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子の  
発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略

### 研究報告書

分担項目：アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子の発現亢進分子  
機構解明、天然物由来ヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子発現抑制薬の同定、及び、その分子薬理  
機構解明

|       |       |                       |     |
|-------|-------|-----------------------|-----|
| 研究代表者 | 福井 裕行 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 | 教授  |
| 研究分担者 | 武田 憲昭 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 | 教授  |
| 研究分担者 | 水口 博之 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 | 准教授 |
| 研究分担者 | 柏田 良樹 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 | 准教授 |
| 研究分担者 | 根本 尚夫 | 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 | 准教授 |

研究要旨： ヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体 (H<sub>1</sub>R) 遺伝子はアレルギー疾患感受性遺伝子であり、H<sub>1</sub>R 遺伝子発現抑制薬はアレルギー疾患治療薬となりうる。H<sub>1</sub>R 刺激による H<sub>1</sub>R 遺伝子発現亢進には、PKC $\delta$  シグナルの活性化が必須であり、PKC $\delta$  シグナルは抗ヒスタミン薬、天然物由来の (-)マーキアイン ((-)MKN) により抑制された。鼻過敏症モデルラットへの抗ヒスタミン薬投与により、H<sub>1</sub>R 遺伝子発現は完全に抑制されたが、鼻過敏症症状の改善は 60%に留まった。そこで、鼻過敏症モデルラットに抗ヒスタミン薬と抗アレルギー性天然物を併用投与することにより、高度の症状改善をもたらす天然物の検索を行った。その結果、抗アレルギー性天然物 A の同定に成功した。抗アレルギー性天然物は細胞内シグナル B 抑制活性を持ち、シグナル B 下流の疾患遺伝子 C の発現を抑制した。更に、天然物 A の有効成分の同定に成功した。

天然物由来 PKC $\delta$  シグナル抑制薬として同定した(-)MKN の標的分子として、HSP90 を同定した。HSP90 抑制薬である 17AAG は H<sub>1</sub>R 遺伝子発現を抑制し、HSP90 の鼻過敏症症状における重要性を示唆した。

#### A. 研究目的

アレルギー疾患の更なる症状改善のために、疾患感受性遺伝子発現亢進の抑制による治療戦略が高く期待される。多くの G タンパク共役型受容体 (GPCR) の刺激が受

容体発現レベルを低下させるのに反し、ヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体 (H<sub>1</sub>R) の刺激がプロテインキナーゼ C- $\delta$  (PKC $\delta$ ) シグナルを活性化させ、H<sub>1</sub>R 遺伝子発現亢進を介し、H<sub>1</sub>R アップレギュレーションを引き起こすこと

を見いだした。この知見を発展させ、H1R 遺伝子がアレルギー疾患感受性遺伝子であることを明らかにした。しかし、PKC $\delta$  シグナルの抑制により、H1R 遺伝子発現は完全に抑制されるが、鼻過敏症症状は約 60% の改善に留まった。この結果から、鼻過敏症症状に関与するシグナルとして、PKC $\delta$  シグナル以外のシグナルの存在が考えられた。本研究において、(1) 鼻過敏症症状の 60% に関与する PKC $\delta$  活性化から H1R 遺伝子発現亢進に至るシグナルの解明を行い、(2) 天然物由来 PKC $\delta$  シグナル抑制薬である(-)MKN の分子薬理機構解明を進展させた。(3) H1R 遺伝子に加えて、ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) 遺伝子、IL-4 遺伝子、及び、IL-5 遺伝子がアレルギー疾患感受性遺伝子群を形成することを示唆した。(4) 鼻過敏症症状に関与し、PKC $\delta$  シグナルと合わせて症状の約 90 以外の%に関与する細胞内シグナル B、シグナル B 抑制薬を含有する天然物 A の検索を行った。

## B. 研究方法

### 1. 臨床研究

花粉症患者ボランティアの抗ヒスタミン薬による初期療法群 8 名、非初期療法群 17 名について、くしゃみと鼻漏を鼻アレルギーガイドライン 2009 の重症度分類に従ってスコア化した。また、ボランティア鼻粘膜を採取し、H1R、HDC、IL-4、及び、IL-5 に対する mRNA を測定した(Mizuguchi H et al. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 32 (10), 745-748, 2010.)。

### 2. 鼻過敏症モデルラット

6 週齢 Brown-Norway 系雄性ラットの鼻前庭に toluene 2,4-diisocyanate (TDI) に

より感作した。感作ラットを TDI により過敏症発作を誘発し、症状スコアの測定と mRNA 測定用鼻粘膜サンプルを採取した(Mizuguchi H et al. *J Pharmacol Sci* 108 (4), 480-486, 2008.)。

### 2. mRNA 測定

培養細胞、鼻過敏症モデルラット鼻粘膜、及び、花粉症患者鼻粘膜サンプルに含まれる mRNA 測定は、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems) を用いて cDNA 合成を行い、Fast Start Universal Probe Master を含む試薬により、Sequence Detector (GeneAmp 7300 Sequence Detection System, Applied Biosystems) を用いて real-time PCR 反応による mRNA 測定を行った(Mizuguchi H et al. *J Pharmacol Sci* 108 (4), 480-486, 2008.)。

3. PKC $\delta$ -MEK-ERK-poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP) シグナル、H1R 遺伝子発現亢進、及び、(-)MKN の分子薬理学 PKC $\delta$ 、及び、ERK のリン酸化はサンプルを SDS-PAGE で展開し、リン酸化 PKC $\delta$  (Tyr311) 抗体、及び、リン酸化 ERK 抗体による Western-blot 法により検出した。

PKC $\delta$  の細胞内移行は、免疫組織学的方法により、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

遺伝子転写調節因子の同定は、ゲルシフトアッセイ、スーパーシフトアッセイ他により行った。

キラルカラムにより、有機合成した(±)MKN から (-)MKN を分離した。HeLa 細胞から抽出した蛋白質を陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーで分画後、(-)MKN の存在により蛍光をクエンチング

させる蛋白質の検索により(-)MKN の標的分子の同定を行った。

### C. 研究結果

#### 1. 花粉症患者鼻粘膜アレルギーシグナル関連遺伝子 mRNA の測定

花粉症患者鼻粘膜の H1R mRNA、HDC mRNA、IL-4 mRNA、IL-5 mRNA、及び、IL-33 mRNA を測定した。HDC mRNA、及び、IL-5 mRNA レベルは H1R mRNA と非常に高い相関性を示し(図 1)、鼻過敏症症状スコアとも相関した。IL-4 mRNA は測定できなかった。IL-33 mRNA は H1R mRNA、HDC mRNA、IL-5 mRNA、及び、鼻過敏症症状スコアと相関性を示さなかった。

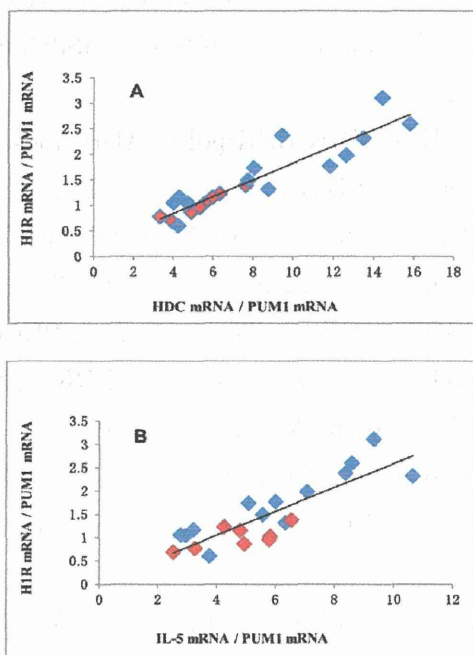


図 1. 花粉症患者鼻粘膜の H1R mRNA、HDC mRNA、及び、IL-5 mRNA レベルの相関性. A:  $r = 0.923$ ,  $p < 0.01$ , B:  $r = 0.788$ ,  $p < 0.01$ .

#### 2. PKC $\delta$ 活性化シグナルによる H1R 遺伝子発現亢進機構

H1R 刺激による H1R 遺伝子発現亢進は、PKC $\delta$  の活性化を介して引き起こされることを明らかにしている。H1R 刺激は、PKC $\delta$  と ERK のリン酸化を引き起こした。そして、MEK 阻害薬 (U0126)、及び、PARP 阻害薬 (DPQ) は H1R 刺激による H1R 遺伝子発現亢進を抑制した。また、H1R 刺激により、PKC $\delta$  がゴルジ体に移行させること免疫組織学的に証明した。

H1R 遺伝子プロモーターのデレクションミュータントのルシフェラーゼアッセイにより、転写調節部位が 2 か所に分かれることを見いだした。そして、PARP シグナルが上流の 2 ヶ所の AP-1 サイトと 1 ヶ所の Ets-1 サイトを介して、また、下流の Ku70/Ku85 転写調節蛋白を介して、H1R 遺伝子発現を亢進させることを明らかにした。

#### 3. (-)MKN の分子薬理学

キラルカラム (Chiral Pack IC カラム, ダイセル化学工業) を用いて、有機合成した ( $\pm$ )MKN から (-)MKN を分離した。

HeLa 細胞から抽出した蛋白質溶液を陰イオン交換カラム (HiTrap Q FF, GE Healthcare) を用いる HPLC により分画し、(-)MKN の添加により蛋白質の蛍光が強くクエンチされる分画の SDS 電気泳動を行い、泳動ゲルから蛋白質を回収し、一次構造決定により蛋白質の同定を行い、(-)MKN の標的となる蛋白質の検索を行った。その結果、HSP90 が候補と考えられた。そして、(-)MKN を固定化した樹脂を作成し、(-)MKN と HSP90 の結合を証明した。

H1R 刺激による H1R 遺伝子発現亢進は、



HSP90 抑制薬、17-(Allylamino)-17-demethoxygeldanamycin (17AAG) により抑制された。

#### 4. 鼻過敏症症状に関与する細胞内シグナルと疾患感受性遺伝子の検索

鼻過敏症モデルラットの症状は抗ヒスタミン薬投与により約 60%が改善された。そこで、鼻過敏症モデルラットに抗ヒスタミン薬と抗アレルギー性天然物抽出液の併用投与を行い、症状の高度な改善を引き起こす抗アレルギー性天然物の検索を行った。その結果、抗ヒスタミン薬と天然物 A 抽出液の併用投与により、症状の 90%が改善されることを見いだした。そこで、H1R 遺伝子、HDC 遺伝子、IL-4 遺伝子、及び、IL-5 遺伝子などの PKC $\delta$  シグナル下流の疾患感受性遺伝子以外で、天然物 A 抽出液の投与により発現亢進が抑制される遺伝子の検索を行い、遺伝子 C を同定した。次いで、培養細胞を用いて、遺伝子 C の発現亢進機構を調べ、細胞内シグナル B により調節されることを明らかにした。そして、遺伝子 C の発現亢進に対する抑制活性を指標に、天然物 A に含有される活性物質の同定に成功した。

#### D. 考察

花粉症患者の鼻過敏症症状スコアと鼻粘膜 H1R mRNA、HDC mRNA、及び、IL-5 mRNA の相関性を証明した。また、H1R mRNA、HDC mRNA、及び、IL-5 mRNA はそれぞれ間で、非常に高い相関性を示した。以上の結果は、H1R 遺伝子、HDC 遺伝子、及び、IL-5 遺伝子が疾患感受性遺伝子群を形成することを示唆する。花粉症患者鼻粘膜の IL-4 mRNA は測定できなかつ

た。採取した鼻粘膜サンプルの中には IL-4 産生細胞が含まれなかった可能性が考えられる。しかし、鼻過敏症モデルラットにおいて、H1R mRNA と IL-4 mRNA は非常に高い相関性を示すことから、H1R 遺伝子、HDC 遺伝子、及び、IL-5 遺伝子に加えて、IL-4 遺伝子も同じ疾患感受性遺伝子群に属することが考えられる。一方、近年アレルギー疾患に関与することが示されている IL-33 の mRNA レベルは花粉症患者の症状スコアと相関が見られず、H1R mRNA レベルとも相関しなかった。IL-33 遺伝子発現と相関する症状は、H1R 遺伝子とはアレルギー疾患に対して異なる病理機構に属することが考えられる。

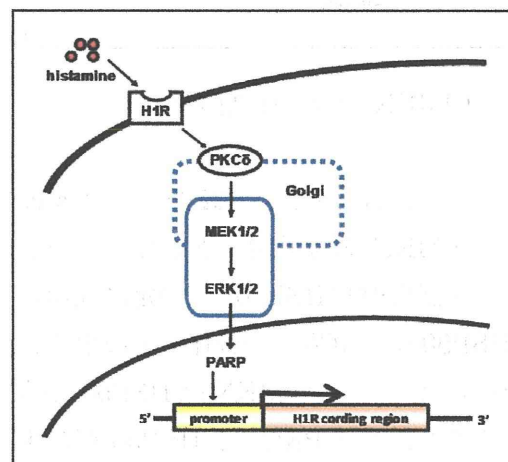


図 2. H1R 刺激による H1R 遺伝子発現亢進機構

H1R 刺激による H1R 遺伝子発現亢進機構において、PKC $\delta$  は H1R 刺激によりリン酸化とゴルジ体への移行が引き起こされ、MEK、ERK、PARP にシグナルが伝達され、H1R 遺伝子発現を亢進させることが明らかとなった(図 2)。H1R 遺伝子プロモーターは 2ヶ所の調節部位に分かれ、PARP は

両部位の活性化に関与することが示唆された。上流の領域には転写調節因子として、2ヶ所の AP-1、1ヶ所の Ets-1 が同定された。そして、下流の領域には Ku70、及び、Ku86 が同定された。

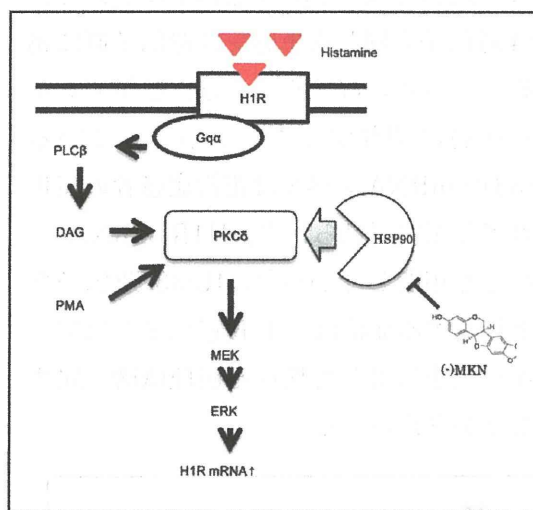


図 3. (-)MKN の分子薬理機構

「苦参」に含有される PKCδ シグナル抑制薬、(-)MKN の標的分子として、ヒートショック蛋白-90 (HSP90) の同定に成功した。HSP90 は PKCδ と複合体を形成することが知られている。(-)MKN は HSP90 と結合することにより PKCδ と HSP90 複合体のゴルジ体への移行を阻害すると考えられる (図 3)。HSP90 の抑制薬、17-(Allylamino)-17-demethoxygeldanamyacin (17AAG) は、H1R 遺伝子発現亢進を抑制することから、HSP90 は鼻過敏症症状発現に重要な役割を持つことが考えられる。

鼻過敏症モデルラットの症状、及び、鼻粘膜 H1R 遺伝子発現亢進に対する「苦参」抽出液、及び、(-)MKN の抑制プロフィールは抗ヒスタミン薬による抑制プロフィールと類似した。H1R シグナルが PKCδ シグ

ナルを介して H1R 遺伝子を含む疾患感受性遺伝子群の発現亢進を引き起こして、鼻過敏症症状を引き起こすという病理機構に対して、抗ヒスタミン薬、及び、(-)MKN の両者は作用点がシグナルの上流、或いは、下流と言う違いあるものの、同じ病理シグナル機構に対して薬効を発現していることが考えられる。

花粉症患者において、鼻粘膜 H1R mRNA レベルが低いにも関わらず症状の改善が見られないケースがあり、また、鼻過敏症モデルラットの症状スコアが H1R mRNA レベルをコントロールラットのレベルにまで低下させても症状スコアは 40% までしか低下しなかった。そこで、鼻過敏症モデルラットに抗ヒスタミン薬と併用投与することにより症状を高度に改善できる天然物の検索を行い、天然物 A の発見に成功した。天然物 A は、細胞内シグナル B を抑制し、疾患感受性遺伝子 C の発現亢進を抑制した。更に、天然物 A の有効成分の同定に成功した (特許出願準備中)。抗ヒスタミン薬、或いは、PKCδ シグナル抑制薬と細胞内シグナル B 抑制薬の併用投与による鼻過敏症治療戦略は、本疾患を高度に改善できると考えられる。

#### E. 結論

鼻過敏症症状に関与する主要シグナルは H1R-PKCδ-HSP90-ERK-PARP-疾患感受性遺伝子発現亢進に至るシグナルであることが明らかとなった。H1R 遺伝子に加えて、HDC、IL-4、及び、IL-5 の遺伝子が疾患感受性遺伝子群を形成することが示唆された。そして、このシグナルに対して、抗ヒスタミン薬は H1R を標的として、また、

(-)MKN は HSP90 を標的として、薬効を発現することが示唆された。しかし、この主要シグナルの抑制では、鼻過敏症の症状を完全に抑制することは出来ないことが明らかとなった。鼻過敏症症状は、PKC $\delta$  シグナル下流の疾患感受性遺伝子発現亢進に加えて、第2の細胞内シグナルとその下流の疾患感受性遺伝子を明らかにすることに成功した。

#### F. 研究危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

論文

- 1) Dev S, Mizuguchi H, Das AK, Baba Y, Fukui H. Proteomic Microarray analysis reveals suppression of histamine signaling by *Kujin* alleviates allergic symptoms by inhibition of NF- $\kappa$ B activation through down-regulation of FAT10 mRNA expression. *Int Immunopharmacol* **11** (10), 1504-1509, 2011.
- 2) Mizuguchi H, Terao T, Kitai M, Ikeda M, Yoshimura Y, Das AK, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H. Involvement of PKC $\delta$ /ERK/Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) signaling pathway in histamine-induced up-regulation of histamine H<sub>1</sub> receptor gene expression in HeLa cells. *J Biol Chem* **286** (35), 30542-30551, 2011.
- 3) Nurul IM, Mizuguchi H, Shahriar M, Venkatesh P, Maeyama K, Mukherjee PK,

Hattori M, Choudhuri MS, Takeda N, Fukui H. *Albizia lebbek* suppresses histamine signaling by the inhibition of histamine H<sub>1</sub> receptor and histidine decarboxylase gene transcriptions. *Int Immunopharmacol* **11** (11), 1766-1772, 2011.

4) Mizuguchi H, Ono S, Hattori M, Fukui H. Inverse agonistic activity of antihistamines and suppression of histamine H<sub>1</sub> receptor gene expression. *J Pharmacol Sci* **118** (1), 117-121, 2012.

5) Kitamura Y, Mizuguchi H, Ogishi H, Kuroda W, Hattori M, Fukui H, Takeda N. Pre-seasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses IL-5, but not IL-33 mRNA expression in the nasal mucosa of patients with seasonal allergic rhinitis caused by Japanese cedar pollen. *Acta Otolaryngol*, **132**(4), 434-438, 2012.

6) Sarkar L, Bhuvanewari N, Samanta SK, Islam NM, Sen T, Fukui H, Mizuguchi H, Karmakar S. A report on anti-oedemogenic activity of *Byttneria herbacea* roots - possible involvement of histamine receptor (Type I). *J Ethnopharmacol* **140**(2), 443-446, 2012.

書籍

- 1) 20. Fukui H, Mizuguchi H. Chapter 12, Histamine H<sub>1</sub> Receptor Gene Expression Mechanism as a Novel Therapeutic Target of Allergy. In, Biomedical aspects of histamine; new perspectives. Eds., Shahid M, Khardri N, Khan RA, Tripathi

T. Springer, 2010.

2) 水口博之、北村嘉章、近藤勇人、黒田若奈、吉田陽香、宮本裕子、服部将史、武田憲昭、福井裕行. ヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子発現機構のアレルギー疾患における病理学的意義. *YAKUGAKU ZASSHI* 131 (2), 171-178, 2011.

## 2. 学会発表

- 1) 水口博之、福井裕行. PKC $\delta$  as a target molecule of natural resources-derived anti-allergic compounds that suppress up-regulation of allergic diseases sensitive gene expression. シンポジウム「難治性疾患におけるプロテインキナーゼ C サブタイプの治療薬標的分子としての意義」、第 84 回日本薬理学会年会 (パシフィコ横浜、横浜市), 2011.
- 2) 水口博之、寺尾拓馬、坂本典子、吉村好之、山脇洋輔、藤本勝巳、福井裕行. Ku86 represses PMA-induced up-regulation of histamine H<sub>1</sub> receptor gene expression in HeLa cells. 第 84 回日本薬理学会年会 (パシフィコ横浜、横浜市), 2011.
- 3) 福井裕行. 抗ヒスタミン薬のアレルギー疾患感受性遺伝子発現抑制作用. ランチョンセミナー. 日本薬学会第 131 年会 (静岡県立大学、静岡県コンベンションアーツセンター「グランシップ」、ツインメッセ静岡、静岡市), 2011.
- 4) 成相祐希、水口博之、金山知代、加藤周平、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. 苦参から見出された新規抗アレルギー成分 *maackiain* の単離・同定およびその性質について (Isolation and characterization of new anti-allergenic

- compound, *maackiain* from *Kujin*). 日本薬学会第 131 年会 (静岡県立大学、静岡県コンベンションアーツセンター「グランシップ」、ツインメッセ静岡、静岡市), 2011.
- 5) 成相祐希、水口博之、金山知代、加藤周平、永井浩章、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. 苦参から見出された新規抗アレルギー成分 *maackiain* の単離・同定およびその性質について. 第 15 回活性アミンに関するワークショップ (徳島文理大学、徳島市), 2011.
- 6) 福井裕行、金山知代、加藤周平、成相祐希、馬場祐子、水口博之、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久. 苦参由来 IL-4 遺伝子発現抑制物質. 第 28 回和漢医薬学会学術大会 (富山県民会館、富山市), 2011.
- 8) 福井裕行. 疾患感受性遺伝子と細胞内創薬ターゲット. 明治薬科大学ハイテクリサーチセンター特別講演会: 次世代のゲノム創薬を目指して (明治薬科大学清瀬キャンパス、清瀬市), 2011.
- 9) 福井裕行. 疾患感受性遺伝子の発現抑制によるアレルギー疾患治療戦略. 特別講演、第 15 回日本ヒスタミン学会 (盛岡グランドホテル、盛岡市), 2011.
- 10) 寺尾拓馬、水口博之、池田光広、北村嘉章、武田憲昭、福井裕行. トヒスタミン H<sub>1</sub> 受容体遺伝子発現メカニズムの解明. 第 15 回日本ヒスタミン学会 (盛岡グランドホテル、盛岡市), 2011.
- 11) 福井裕行、北村嘉章、水口博之、黒田若奈、武田憲昭. 花粉症におけるアレルギー疾患感受性遺伝子群. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール、東京都), 2011.

- 12) 水口博之、Shrabanti Dev、Asish K Das、馬場嘉信、福井裕行. 和漢薬苦参は FAT10 遺伝子発現の抑制を介してアレルギー症状を緩和する. 第 120 回日本薬理学会近畿部会 (ホテルグランビア京都、京都市), 2011.
- 13) 成相祐希、水口博之、永井浩章、金山知代、加藤周平、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. 苦参由来新規抗アレルギー成分 *maackiain* の単離、合成および作用機序に関する研究. 第 50 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国支部学術大会 (サンポートホール高松・かがわ国際会議場、高松市), 2011.
- 14) 福井裕行、水口博之. Allergic disease sensitive gene group in pollinosis. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (幕張メッセ、千葉市), 2011.
- 15) 福井裕行. アレルギー疾患症状発現の病理機構と創薬ターゲット. 第 126 回日本薬学会中国四国支部例会 (徳島大学青藍会館、徳島市), 2012.
- 16) Hiroyuki Fukui. Suppression of allergic disease sensitive gene expression by Maackiain, a novel lead for the therapeutics of allergy. Plenary Lecture, 12th International Congress of Ethnopharmacology (Sicience City, Kolkata, India), 2012.
- 17) Masashi Hattori, Hiroyuki Mizuguchi, Chiyo Matsushita, Hitoshi Niino, Yuko Sagesaka, Keisuke Masuyama, Hiroyuki Fukui. Identification of anti-allergic compound from green tea that suppresses the expression of histamine H<sub>1</sub> receptor gene. 12th International Congress of Ethnopharmacology (Sicience City, Kolkata, India), 2012.
- 18) Sayaka Yamamoto, Hiroyuki Mizuguchi, Islam Mohammed Nurul, Masum Shahriar, Pichairajan Venkatesh, Kazutaka Maeyama, Pulok K. Mukherjee, Masashi Hattori, Mohamed Sahabuddin Kabir Choudhuri, Noriaki Takeda, Hiroyuki Fukui. Albizia Lebbeck alleviated allergy symptom by inhibiting histamine signaling at the transcriptional level. 12th International Congress of Ethnopharmacology (Sicience City, Kolkata, India), 2012.
- 19) Hiroyuki Fukui. Allergic disease sensitive gene. Lecture, 2nd International Seminar on Recent Development in Pharmaceutical Education and Research. (Calcutta Institute of Pharmaceutical Technology and Allied Science, West Bengal, India), 2012.
- 20) Hiroyuki Mizuguchi, Hiroyuki Fukui. Exploring the drug targets using natural resources-derived anti-allergic compounds that suppress up-regulation of allergic diseases sensitive gene expression. シンポジウム: Frontier of intracellular drug target research、第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都), 2012.
- 21) 成相祐希、水口博之、永井浩章、金山知代、加藤周平、吉村好之、柏田良樹、根本尚夫、高石喜久、武田憲昭、福井裕行. Identification of the target molecule of the new anti-allergic compound,

maackiain from Kujin. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都), 2012.

22) 永井浩章、水口博之、成相祐希、吉村好之、武田憲昭、福井裕行. Apigenin suppresses histamine H<sub>1</sub> receptor gene expression by interaction with HSP90. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都), 2012.

23) 菅原健太、菱沼滋、福井裕行、庄司優. Thermodynamic binding properties of agonists and antagonists at human histamine H<sub>1</sub> receptors in Chinese hamster ovary cells. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都国際会議場、京都), 2012.

24) 水口博之、Shrabanti Dev、Asish K Das、馬場嘉信、福井裕行. 和漢薬苦参はヒスタミンシグナル抑制を介した FAT10 /NF- $\kappa$ B シグナルの抑制により抗アレルギー作用を示す。日本薬学会第 132 年会 (北海道大学、札幌), 2012.

H. 知的財産権の出願登録状況

1. 特許取得

1) 鼻過敏症予防・治療剤、発明者：福井裕行、武田憲昭、水口博之、出願人：徳島大学、特願 2012-040703、出願日：平成 24 年 2 月 27 日

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H1 受容体遺伝子の発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略

#### 分担研究報告書

分担研究項目：マウス喘息モデルにおける **Maaciain** の作用に関する研究

研究代表者 斎藤 博久 国立成育医療研究センター研究所 副研究所長

研究協力者 大保木啓介 国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー研究部 上級研究員

研究協力者 梶原 直樹 公益財団法人 東京都医学総合研究所 分子医療プロジェクト 研究員

研究要旨：本研究班の研究代表者によって、toluene-2, 4-diisocyanate 曝露によるアレルギー性鼻炎モデルにおいて、苦参抽出物が鼻粘膜におけるヒスタミン H1 受容体の発現、ヒスチジン脱炭酸酵素活性や IL-4、IL-5 mRNA の発現を抑制し、くしゃみなどの鼻アレルギー症状を軽減すること（J Pharmacol Sci. 2009; 109 (4) : 606-17.）が示されている。初年度は苦参抽出物が急性喘息のマウスモデルの病態を改善することを確認したが、本年度は苦参由来成分である **Maaciain** が及ぼす影響について同様の OVA を用いたマウス喘息モデルを用いて検討した。**Maaciain** は抗原チャレンジの直前から抗原投与中まで毎日 50  $\mu$ g を腹腔内投与した。**Maaciain** の腹腔内投与によって、BALF 中への好酸球浸潤に有意な変化は対照と比較して認められなかった。BALF 中の IL-4、IL-5、IL-6、IL-13 濃度は、いずれも弱い減少傾向を認めた。一方で、BALF 中の IP-10、TNF、TARC、IL-25 濃度レベルに変化は認められなかった。総 IgE 及び OVA 特異的 IgE の産生は **Maaciain** の投与群と、CMC 投与群（対照）との間に有意差はなかった。**Maaciain** は苦参抽出物の作用と同様に、マウス喘息モデルにおいて、IL-4 などのアレルギー性炎症関連サイトカインの産生を抑制し、急性喘息の病態を軽減する可能性を有することが示唆された。**Maaciain** の効果を明らかにするためには用量についての検討が必要と考えられた。

## A. 研究目的

本研究班の研究代表者(福井)によって、toluene-2, 4-diisocyanate曝露によるアレルギー性鼻炎モデルにおいて苦参抽出物が鼻粘膜におけるヒスタミン H1 受容体の発現、ヒスチジン脱炭酸酵素活性や IL-4、IL-5 mRNA の発現を抑制し、くしゃみなどの鼻アレルギー症状を軽減することが見出された (J Pharmacol Sci. 2009; 109 (4): 606-17.)。スギ花粉症患者への予防的抗ヒスタミン薬投与によって IL-5 mRNA の発現が抑制され臨床症状も緩和されるが、喘息関連遺伝子として知られる IL-33 mRNA の発現が抑制されないこと (Acta Otolaryngol. 2012 ; 132 (4) :434-8.) が示され、人間の病態におけるヒスタミン経路抑制効果の選択的性質も明らかにされている。そこで本年度は苦参抽出物の Maaciain が急性喘息の病態に及ぼす影響についてマウス喘息モデルを用いて検討した。

## B. 研究方法

実験には C57BL/6J 雄マウスを使用した。卵白アルブミン (OVA 50  $\mu$ g : 水酸化アルミニウムゲル (1:1) 溶液を 0、8 日目に腹腔内投与することで感作を行い、16、18、20 日目に 200  $\mu$ g の OVA を経鼻吸入させることで急性喘息モデルを作成した。Maaciain は感作開始後 15 から 20 日目まで毎日 0.5  $\mu$ g/100  $\mu$ l を腹腔内投与した。21 日目に安楽死させ、血清、気管支肺胞洗浄液 (BALF)、肺組織をサンプリングした。喘息モデルの指標として、血清中の IgG1 及び IgE レベル、BALF 中の炎症細胞数 (Sysmex, XT1800iv) とサイトカイン濃度 (Luminex, ELISA) を評価した。

## C. 結果

感作したマウスに OVA を吸入させることによって、BALF 中への好酸球を中心とする炎症細胞の増加が認められた。血清中の総 IgE 及び OVA 特異的 IgE レベルは OVA 吸入によって増加した。総 IgG1 レベルは変化せず、OVA 特異的 IgG1 レベルは増加した。OVA 特異的 IgE の産生は Maaciain の投与によって僅かに抑制傾向が見られたものの、PBS 投与 (対照) との間に統計的有意差はなく、総 IgE、総 IgG1 および OVA 特異的 IgG1 の産生は不変であった。

Maaciain の腹腔内投与によって、BALF 中への好酸球浸潤の減少を認めなかった。BALF 中のサイトカインのうち、統計的有意差はないものの、アレルギー疾患における炎症に関連するサイトカインである IL-4 (p=0.34)、IL-5 (p=0.16)、IL-6 (p=0.14)、IL-13 (p=0.20) についての減少傾向を認めた。さらに、他のサイトカイン、ケモカインについて検討したところ、統計的有意差はないものの、IL-1  $\beta$  (p=0.08)、IL-2 (p=0.20)、IL-17 (p=0.13)、RANTES/CCL5 (p=0.12) についての減少傾向を認め、KC/CXCL1 については統計的に有意な減少を認めた (p=0.04)。一方で、BALF 中の IP-10、TNF、TARC、IL-25 濃度レベルに変化は認められなかった。

## D. 考察

Maaciain が肺組織における IL-4 などアレルギー疾患に関連するサイトカインおよびケモカインの産生を抑制する傾向にあるという本年度の研究結果は、福井らが報告したアレルギー性鼻炎ラットモデルの結果お



よび昨年度の本分担研究結果と一致する。また、Maaciain の投与によって IL-4 のみならず、多くのアレルギー疾患の炎症に関連あるサイトカイン、ケモカインが減少傾向にあることから、2 型ヘルパー T 細胞の分化や機能の抑制だけではなく、気道構成細胞やマクロファージなどにも Maaciain は作用しうると考えられる。しかしながら、本年度得られた Maaciain の効果は苦参抽出物と比べて限定的である。この原因の一つに用量の不足が考えられる。有機合成 Maaciain を用いた、高用量での効果について検討することで、引き続き天然物由来成分が急性喘息の病態にどのような影響を及ぼすのかについて検討する予定である。

#### E. 結論

Maaciain は苦参抽出物の作用と同様に、マウス喘息モデルにおいて、IL-4 などのアレルギー性炎症関連サイトカインや KC/CXCL1 などのケモカインの産生を抑制し、急性喘息の病態を軽減する可能性を有することが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Matsuda A, Morita H, Unno H, Saito H, Matsumoto K, Hirao Y, Munechika K, Abe J. Anti-inflammatory effects of high-dose IgG on TNF- $\alpha$ -activated human coronary artery endothelial cells. *Eur J Immunol.* 2012 [Epub ahead of print]
2. Okayama Y, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Matsumoto K, Hashimoto N, Ohmori K, Kawakami T, Saito H, Ra C.

Omalizumab inhibits acceleration of Fc $\epsilon$ RI-mediated responsiveness of immature human mast cells by immunoglobulin E.

*Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012;108(3):188-94.

3. Itoh S, Kimura N, Axtell RC, Velotta JB, Gong Y, Wang X, Kajiwara N, Nambu A, Shimura E, Adachi H, Iwakura Y, Saito H, Okumura K, Sudo K, Steinman L, Robbins RC, Nakae S, Fischbein MP. Interleukin-17 accelerates allograft rejection by suppressing regulatory T cell expansion. *Circulation.* 2011;124(11 Suppl):S187-96.

4. Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N, Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang MJ, Kwon JW, Hong SJ, Inoue K, Goto Y, Yamashita F, Asada T, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, Saito H, Matsumoto K. Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. *PLoS Genet.* 2011;7(7):e1002170.

5. Matsumoto K, Fukuda S, Hashimoto N, Saito H. Human eosinophils produce and release a novel chemokine, CCL23, in vitro. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;155 Suppl 1:34-9.

6. Iikura K, Katsunuma T, Saika S, Saito S, Ichinohe S, Ida H, Saito H, Matsumoto K.

- Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;155 Suppl 1:27-33.
7. Arae K, Oboki K, Ohno T, Hirata M, Nakae S, Taguchi H, Saito H, Nakajima T. Cimetidine enhances antigen-specific IgE and Th2 cytokine production. *Allergol Int.* 2011;60(3):339-44.
8. Ohno T, Oboki K, Morita H, Kajiwarra N, Arae K, Tanaka S, Ikeda M, Iikura M, Akiyama T, Inoue J, Matsumoto K, Sudo K, Azuma M, Okumura K, Kamradt T, Saito H, Nakae S. Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. *PLoS One.* 2011;6(4):e18404.
9. Ebata R, Abe J, Yasukawa K, Hamada H, Higashi K, Suwazono Y, Saito H, Terai M, Kohno Y. Increased production of vascular endothelial growth factor-d and lymphangiogenesis in acute Kawasaki disease. *Circ J.* 2011;75(6):1455-62.
10. Sawaguchi M, Tanaka S, Nakatani Y, Harada Y, Mukai K, Matsunaga Y, Ishiwata K, Oboki K, Kambayashi T, Watanabe N, Karasuyama H, Nakae S, Inoue H, Kubo M. Role of Mast Cells and Basophils in IgE Responses and in Allergic Airway Hyperresponsiveness. *J Immunol.* 2012;188(4):1809-18
11. Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwarra N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K, Nakae S. ST2 Requires Th2-, but Not Th17-, Type Airway Inflammation in Epicutaneously Antigen- Sensitized Mice. *Allergol Int.* 2012. [Epub ahead of print]
12. 大保木啓介、松本健治、斎藤博久  
疾患オミックス研究 日本耳鼻咽喉科学会  
会報 2011; 114(2): 51-59
13. 大保木啓介、松本健治、斎藤博久  
多層的疾患オミックス研究 医療 2011;  
65(3): 135-145
14. 大保木啓介、岡田直子、小島令嗣、松  
本健治、斎藤博久. 喘息表現型の多様性/  
病態・治療 — 小児 *Allergy From the Nose  
to the Lung* 2011; 9(3): 9-14
2. 学会発表
1. 大保木啓介 2011年10月29日  
APAPARI 2010&第48回 JASPACI (第16回  
アジア太平洋小児アレルギー呼吸器免疫学  
会、第48回日本小児アレルギー学会合同大  
会) 福岡 Joint Symposium 10, IL-33 and  
airway inflammation
2. 大保木啓介 2011年12月11日 第3回  
IAA (Innovative Asthma Association) 研究会  
東京台場 特別講演 ; IL-33 と気道炎症
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
(審査中)

(1) 制御性 T 細胞の製造方法（特開 2010-004853）

(2) アトピー素因判定マーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー及びそれらの使用法（特開 2010-207200）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H1 受容体遺伝子の発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略

分担研究報告書

分担研究項目：苦参熱抽出物の細菌感染炎症への作用に関する研究

研究代表者：中山 勝文 東北大学・加齢医学研究所 生体防御学 助教  
研究協力者 小笠原 康悦 東北大学・加齢医学研究所 生体防御学 教授  
研究協力者 川野 光子 東北大学・加齢医学研究所 生体防御学 助教

研究要旨：漢方薬の抗アレルギー・炎症作用を理解するためには、それに含まれる複数の生理活性成分の薬理作用を詳細に分析する必要がある。本研究では、研究班代表者により苦参熱水抽出物から新規ヒスタミン H1 受容体 (H1R) および IL-4 遺伝子発現抑制物質として単離・同定されたマーキアインの菌体成分誘発性炎症の抑制効果について *in vitro* 解析した。LPS あるいは PAM<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> といった細菌由来成分で刺激したマクロファージは IL-6 および TNF- $\alpha$  といった炎症性サイトカインを産生するが、マーキアインはそのサイトカイン産生を濃度依存的に抑制した。興味深いことに LPS によるサイトカイン産生は、H1R アンタゴニストのクロルプロマジンあるいはロラタジンによっても部分的に抑制されたが、マーキアインと H1R アンタゴニストを併用してもマーキアイン単独以上の抑制効果は認められなかった。この結果は、マーキアインは MyD88 経路の抑制だけでなく LPS で分泌誘導されたヒスタミン/H1R 経路を抑制することにより、炎症性サイトカイン産生を抑制することを示唆する。本年度の研究結果から、マーキアインは MyD88 経路および H1R 経路の阻害を介して細菌感染性炎症に抑制効果を示す可能性があることが明らかとなった。