

# 論文内容要旨

Neuromedin-U directly induces degranulation of skin mast cells, presumably via MRGPRX2

(ニューロメジン U は MRGPRX 2 を介して皮膚マスト細胞の脱顆粒を誘導する)

Allergy, in press.

主指導教員：秀 道広教授

(医歯薬保健学研究科 皮膚科学)

副指導教員：杉山 英二教授

(広島大学病院 リウマチ・膠原病科)

副指導教員：田中 暁生准教授

(医歯薬保健学研究科 皮膚科学)

松尾 佳美

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】マスト細胞は即時型アレルギーや蕁麻疹、自己免疫性疾患の発症・増悪において中心的な役割を果たすと考えられているが、その生理的機能については不明な点が多く残されている。マスト細胞は、細胞表面の IgE 受容体が、IgE 抗体とそれに対する抗原により架橋されることで活性化されるが、補体、Toll 様受容体リガンドや神経ペプチドに代表される IgE 抗体に依存しない活性化物質も多く報告されている。我々が着目するニューロメジン U (NMU) は、食欲低下、血圧上昇等の幅広い生理機能を持つ神経ペプチドの一種であるが、アレルギー疾患への関与はほとんど明らかでない。最近、マウスの消化管や肺において、神経末端から分泌される NMU が 2 型自然リンパ球 (ILC-2) を活性化し炎症の誘発に密接に関与することが報じられた (Cardoso V, et al. Nature 2017)。また、NMU は、*in vivo* でマウス皮膚マスト細胞を活性化することが報告されているものの (Moriyama M, et al. J Exp Med 2005)、NMU 反応性のマスト細胞モデルが確立されておらず、*in vitro* での研究は進んでいない。NMU の受容体は、末梢組織に発現している NMUR1 と中枢神経発現している NMUR2 が存在する。しかし、皮膚マスト細胞に NMUR1 が発現しているという報告はなく、またマウスにおいては NMUR1 と NMUR2 をノックダウンしても NMU による炎症は消失しないという報告があり、皮膚マスト細胞には別の NMU の受容体が存在すると考えられる。

【目的】NMU 反応性のマウス骨髄由来皮膚型マスト細胞 (CTMCs) 及びヒト皮膚由来マスト細胞 (hsMCs) を作成し、NMU によるマスト細胞の活性化機序と、皮膚組織における NMU の局在と発現について検討した。

【結果】NMU は *in vitro* で CTMCs と hsMCs を直接活性化し脱顆粒を誘導することが示された。また、これらの反応は百日咳毒素処理によって抑制されることから、Gai を介している可能性が示された。マスト細胞における NMU の受容体については、CTMCs と hsMCs には NMU の受容体として知られている NMUR1、NMUR2 はほとんど発現がなく、サブスタンス P 等の神経ペプチドの新規受容体として最近同定された Mas-related G-protein coupled receptor X2 (MRGPRX2) (マウスの場合 Mrgrprb2) の発現が確認された。そこで、NMU が MRGPRX2 を介してマスト細胞を活性化しているかを検討するため、未知のリガンドが G タンパク共役型受容体 (GPCR) を活性化し得ることを評価できる TGF- $\alpha$  shedding assay を行った。具体的には、Gaq、Gai<sub>1</sub>、Gai<sub>2</sub>、Gai<sub>3</sub> を欠損させた HEK293 細胞に GPCR として MRGPRX2、G タンパク質として Gai (Gaq と Gai<sub>1</sub> とのキメラ蛋白) を導入し、NMU 刺激を行った際の TGF- $\alpha$  遊離量を比色法により確認した。その結果、NMU は直接 MRGPRX2 に結合し、Gai を経由して細胞内に活性化シグナルを伝達することが明らかとなった。次に、皮膚組織で NMU 濃度の上昇が起こり得るかを明らかにするため、皮膚における NMU の局在と発現量について、免疫染色法、ELISA 法により検討した。その結果、NMU はヒト皮膚においてケラチノサイトに選択的、かつ大量に発現していることが示された (2.32±0.4 fg/cell)。さらに、Toll like receptor (TLR)1 と TLR2 のアゴニストである Pam3CSK4 とケラチノサイトに発現する温度感受性チャネル、TRPV (the transient receptor potential vanilloid) 3 のアゴニストである carvacrol の刺激によりケラチノサイトから速やかに NMU が放出された。

【考察】今回得られた結果は、様々な刺激によってケラチノサイトから放出された NMU が、MRGPRX2 を介してマスト細胞を活性化し、皮膚アレルギーの発症・増悪に関与する経路の存在を強く示唆している。今後、皮膚における NMU の合成・放出とそれに次ぐマスト細胞の詳細な活性化制御機構を解明することで、IgE 抗体に依存しないアレルギー疾患の病因解明につながると考えられる。また、ケラチノサイトからの NMU 放出を制御する物質や、MRGPRX2 の特異的アンタゴニストの開発は従来のアレルギー治療薬では効果が限定的であった難治性アレルギー疾患に対する有効な治療薬になると期待される。