

ヒトマスト細胞活性化阻害をターゲットとした アレルギー性疾患（アトピー性皮膚炎等）の 新規治療薬

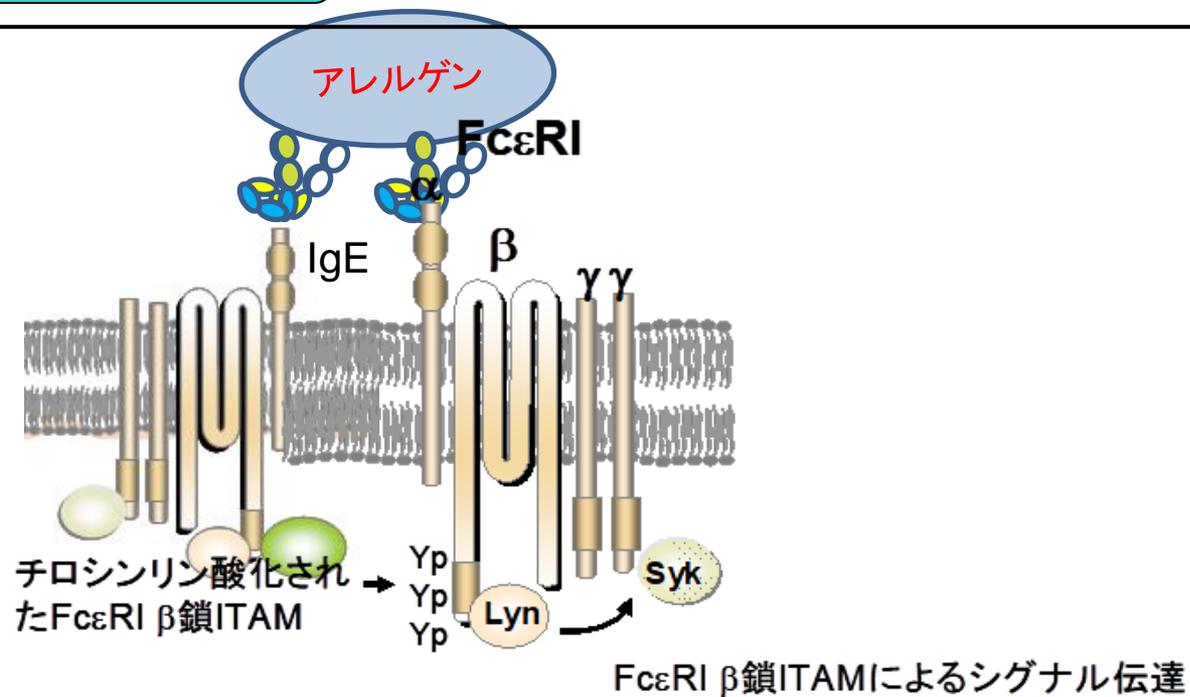
所属 日本大学医学部医学教育センター准教授
日本大学医学部附属板橋病院アレルギーセンター センター長

岡山 吉道

2021年12月21日

マスト細胞は、アレルギー炎症のコンダクターであり、IgE依存性のマスト細胞の活性化の制御が治療の一つの鍵になる。

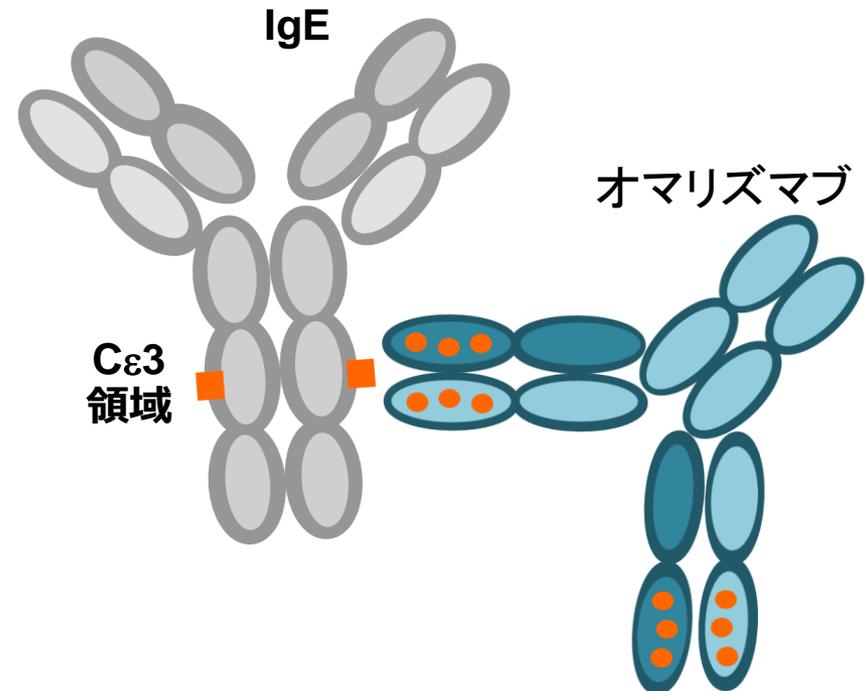
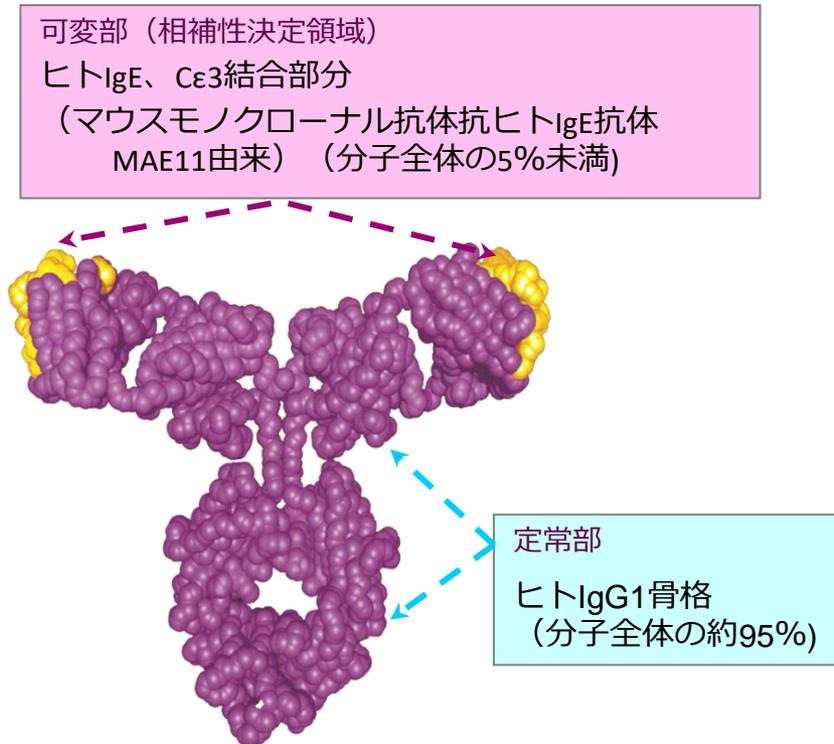
ヒト化抗ヒトIgE抗体はIgEと高親和性IgE受容体Fc ϵ RIの結合を阻害し、ヒトマスト細胞の活性化を阻害し、重症アレルギー性喘息、重症スギ花粉症および重症慢性特発性蕁麻疹の治療に極めて有効であるが、高価である。



細胞内に投与されたチロシンリン酸化されたFcεRI β鎖ITAMペプチドはLynと会合し、Lynのβ鎖への会合を抑制



ヒトマスト細胞の活性化の抑制

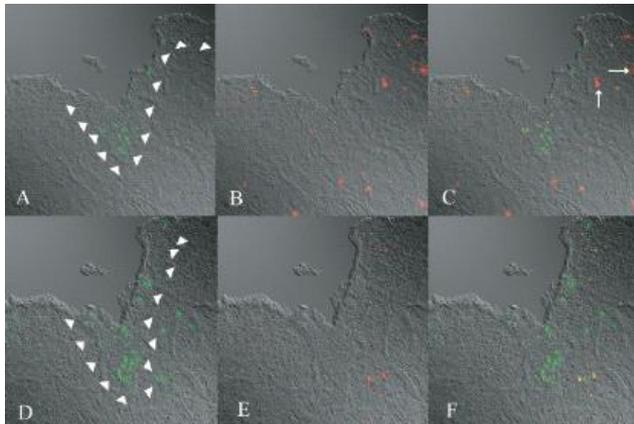


Logsdon SL et al: Curr Top Microbiol Immunol 388. 39. 2015
Hochhaus G et al: Curr Med Res Opin 19. 491. 2003

FcεRIβ鎖はアレルギー性の結膜炎の炎症局所のマスト細胞で高発現している

アトピー性角結膜炎 患者結膜

FcεRIβ tryptase tryptase + FcεRIβ



Donor 1

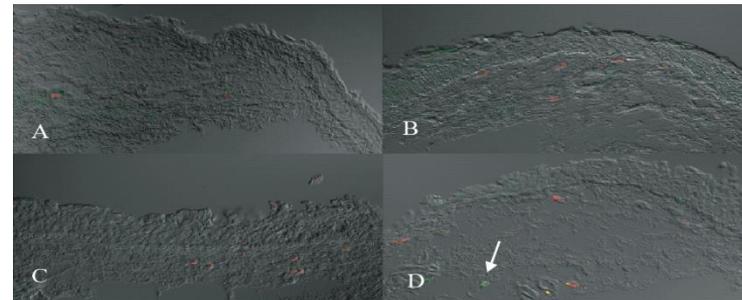
Donor 2

FcεRIβ chymase chymase + FcεRIβ

アレルギー疾患

上輪部角結膜炎 患者結膜

tryptase + FcεRIβ FcεRIβ + FcεRIα



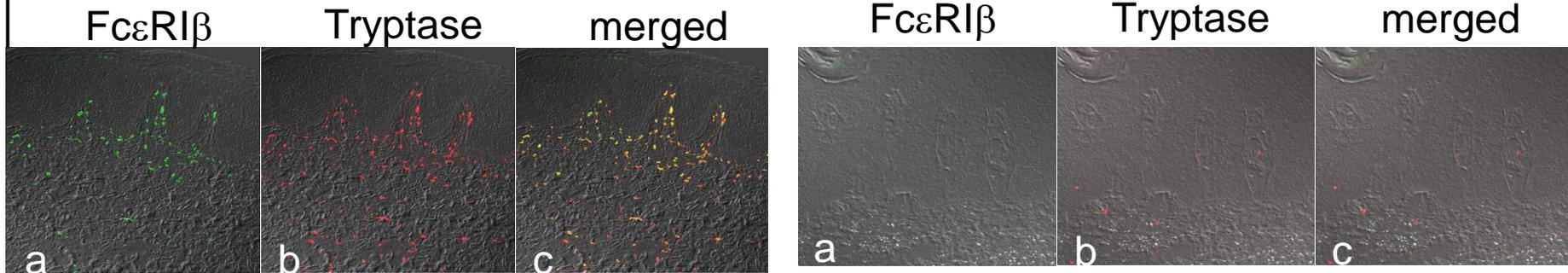
非アレルギー疾患

Okayama Y, Matsuda A et al Immunol Methods 336. 229. 2008
Matsuda A, Okayama Y et al Invest Ophth Vis Sci 50. 2871. 2009

FcεRIβ鎖はアトピー性皮膚炎の炎症局所のマスト細胞で高発現している

A アトピー性皮膚炎 (AD)

B 乾癬



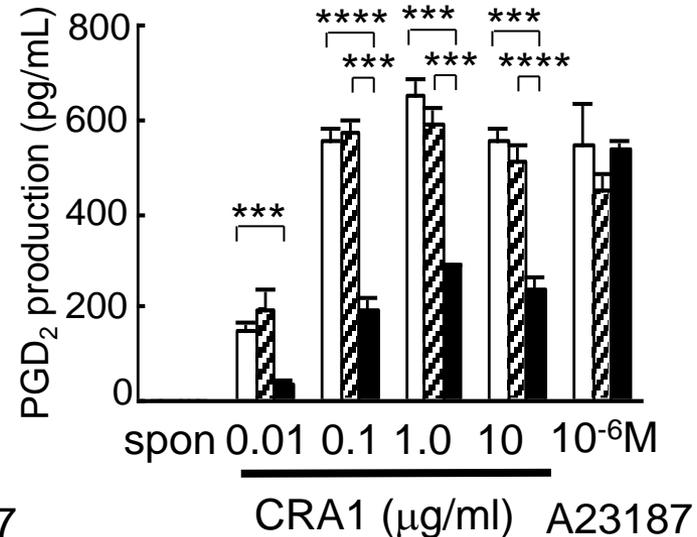
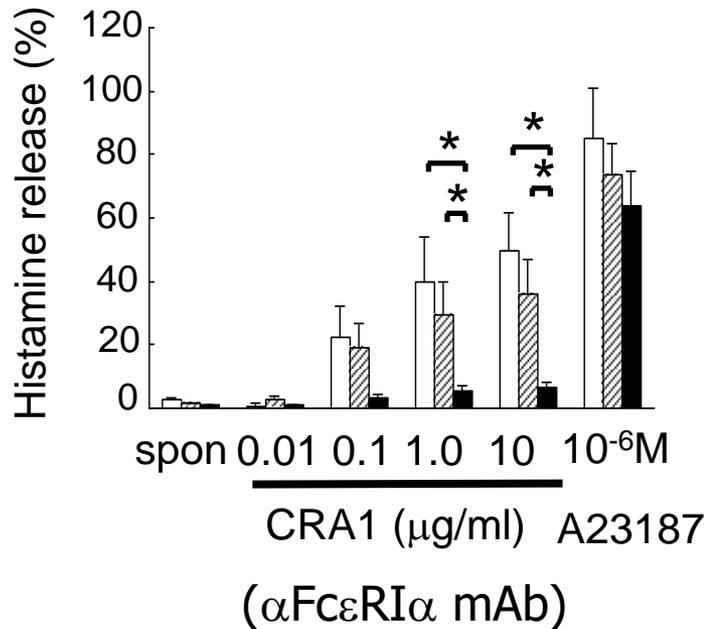
	FcεRIβ ⁺ cells (/mm ² , mean ± SD)	tryptase ⁺ cells (/mm ² , mean ± SD)	Ratio of FcεRIβ ⁺ cells to tryptase ⁺ cells (mean ± SD)
AD	26.4 ± 8.4**	27.7 ± 8.8**	0.95 ± 0.05**
Psoriasis	0.5 ± 0.9	8.1 ± 4.1	0.08 ± 0.13

** $P < 0.01$ compared with psoriasis (Mann-Whitney U-test)

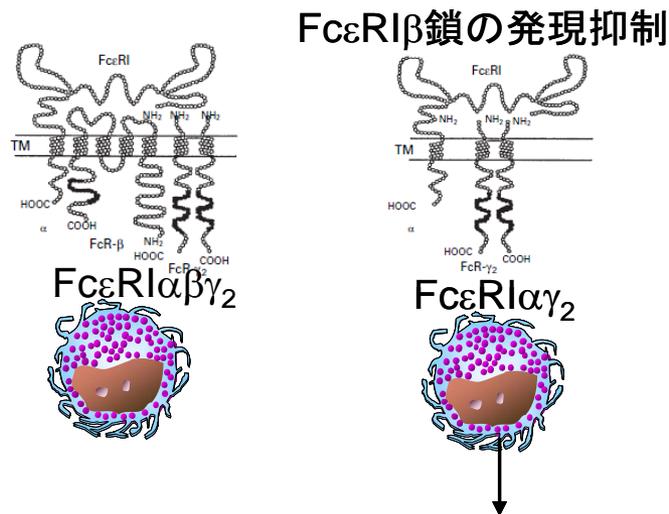
FcεRIβ鎖はFcεRIのシグナル増幅因子である

- non-transduced
- ▨ non-targeted shRNA
- FcεRIβ shRNA

*: $p < 0.05$
 ***: $p < 0.005$
 ****: $p < 0.001$



FcεRIβ鎖の発現抑制によるLynの局在の変化



IgE依存性の脱顆粒、PGD₂産生、
サイトカイン産生が抑制された

FcεRI aggregation	control shRNA			FcεRIβ shRNA		
	image	FcεRIβ	Lyn	image	FcεRIβ	Lyn
-						
(1 min)						
+						

FcεRIβの発現抑制によりFcεRIαの架橋によるヒトマスト細胞のLynの細胞内局在の変化は抑制された

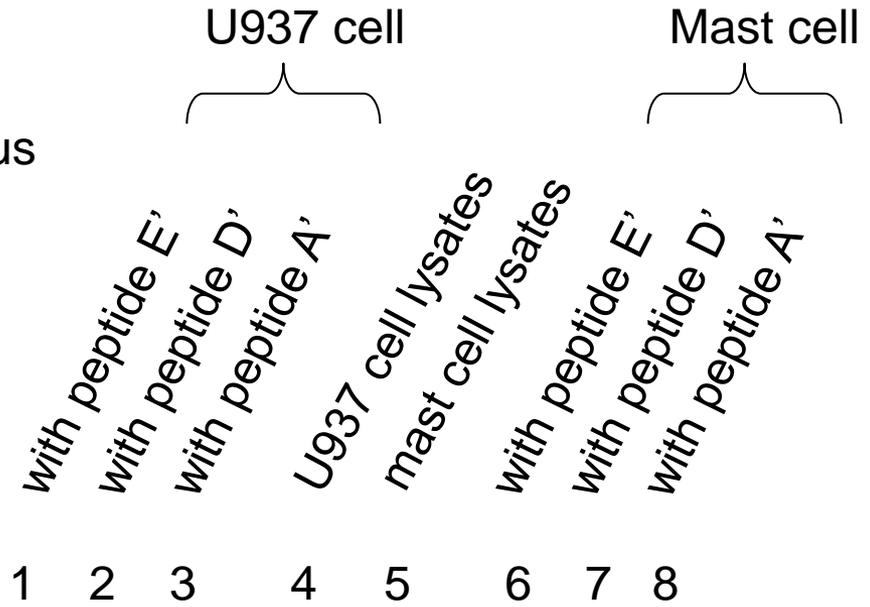
YpYpYpは細胞内Lynと会合する

(peptide E') Biotin- FcεRIβ N terminus

(peptide D') Biotin- **YpYpYp**

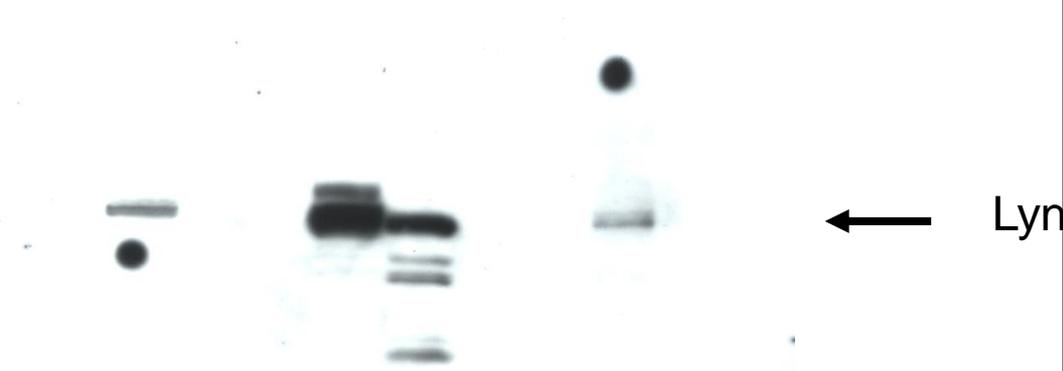
(peptide A') Biotin- YYY

IB: anti-Lyn



Pull-down assay

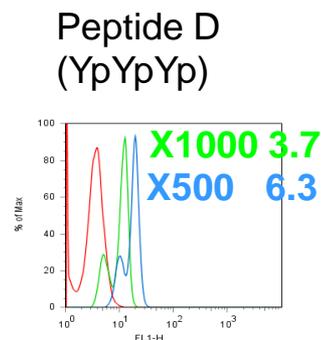
50kDa⁻



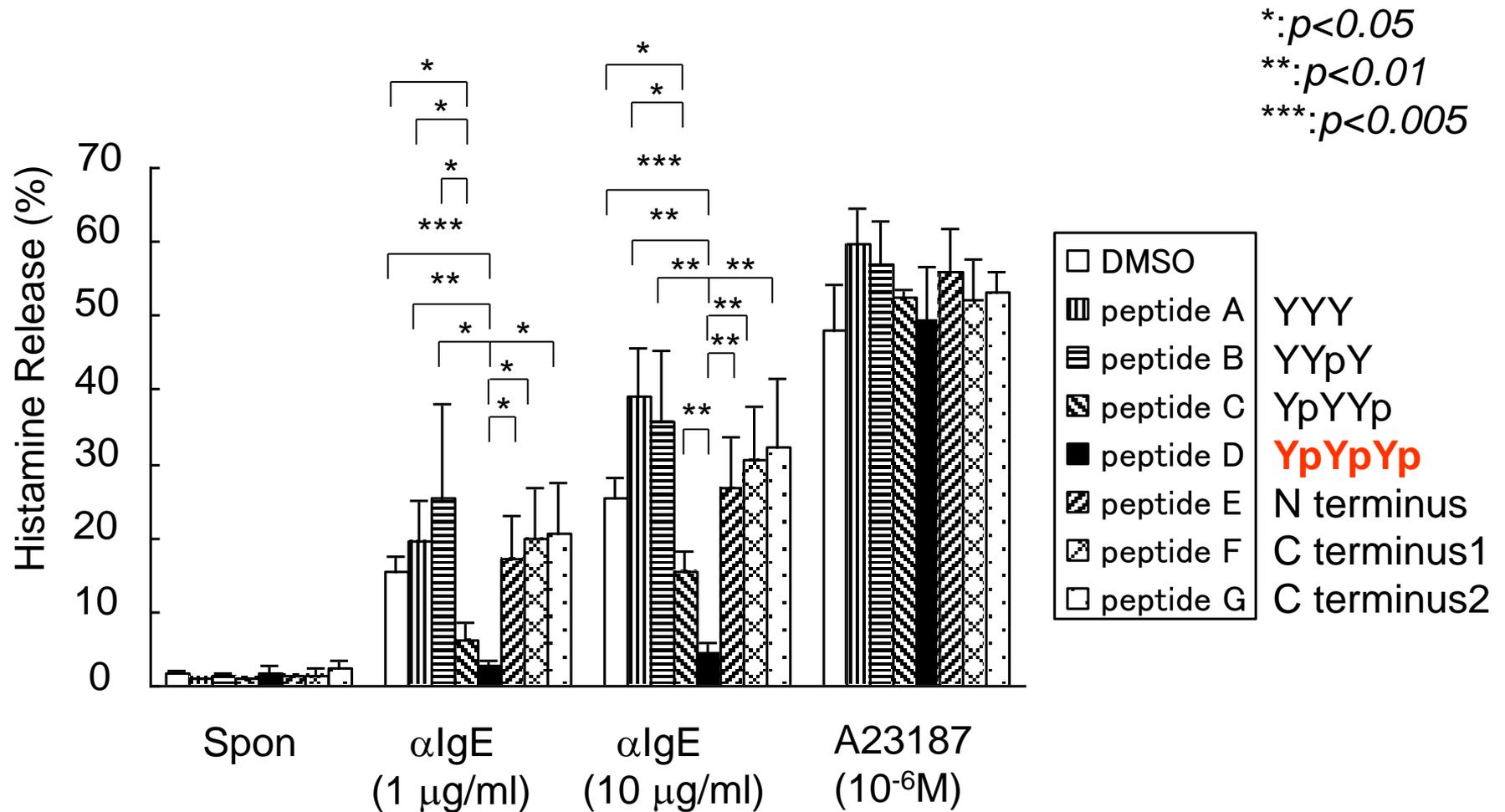
phosphorylated FcεRIβ immunoreceptor tyrosine-based activation motif

- (peptide A) membrane-translocating motif + YYY -FITC
- (peptide B) membrane-translocating motif + YYpY-FITC
- (peptide C) membrane-translocating motif + YpYYp -FITC
- (peptide D) membrane-translocating motif + YpYpYp -FITC**
- (peptide E) membrane-translocating motif + N terminus-FITC
- (peptide F) membrane-translocating motif + C terminus1-FITC
- (peptide G) membrane-translocating motif + C terminus2-FITC

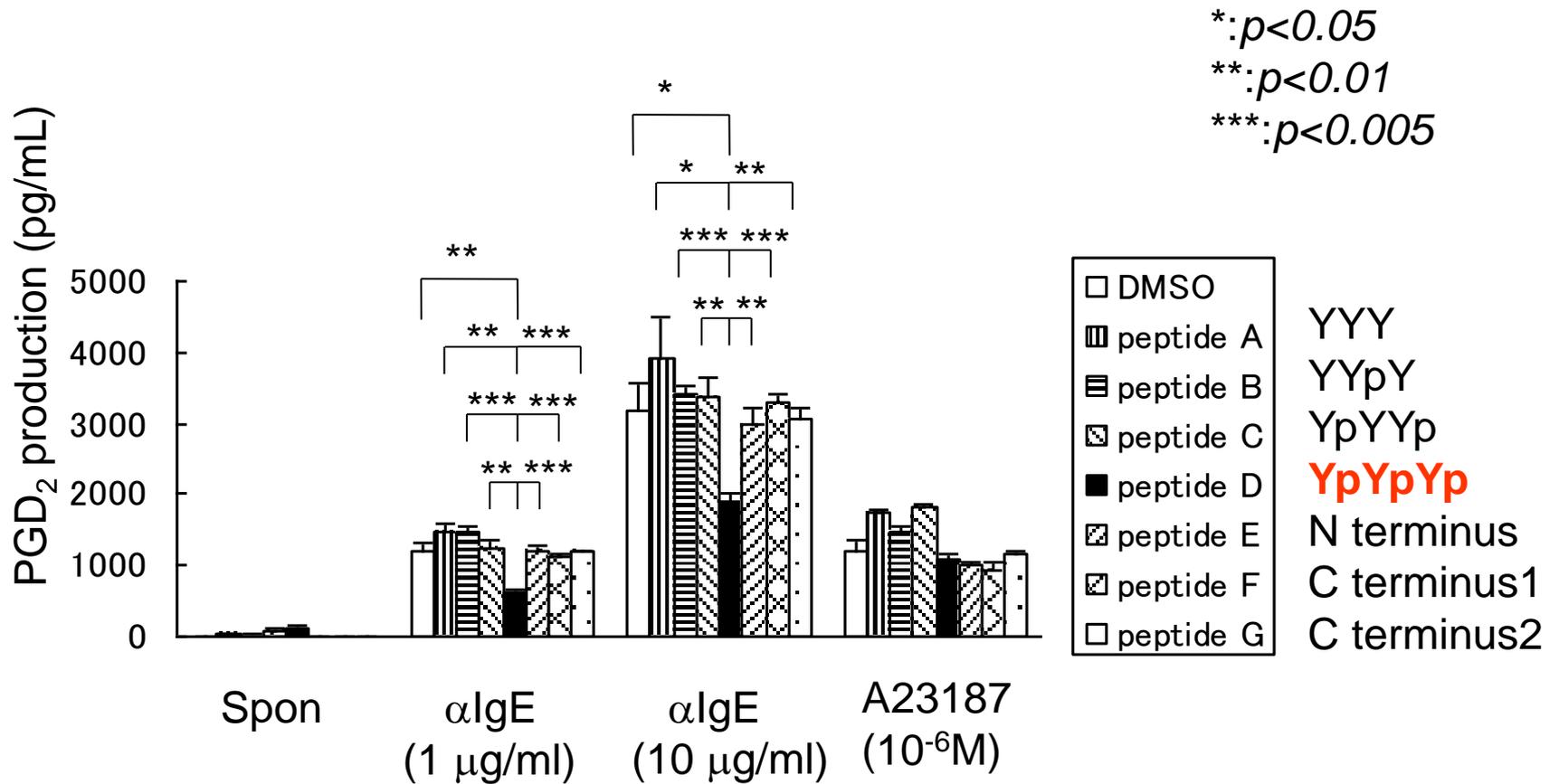
Yp ; phospho-Y



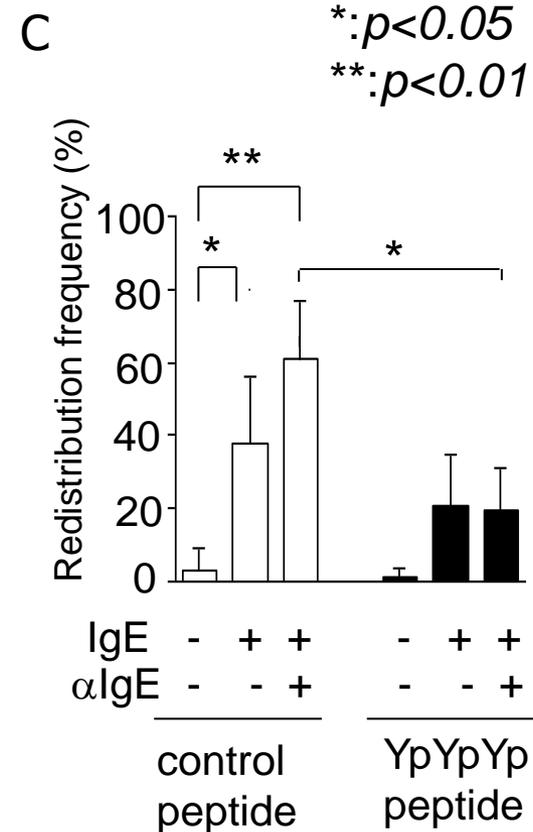
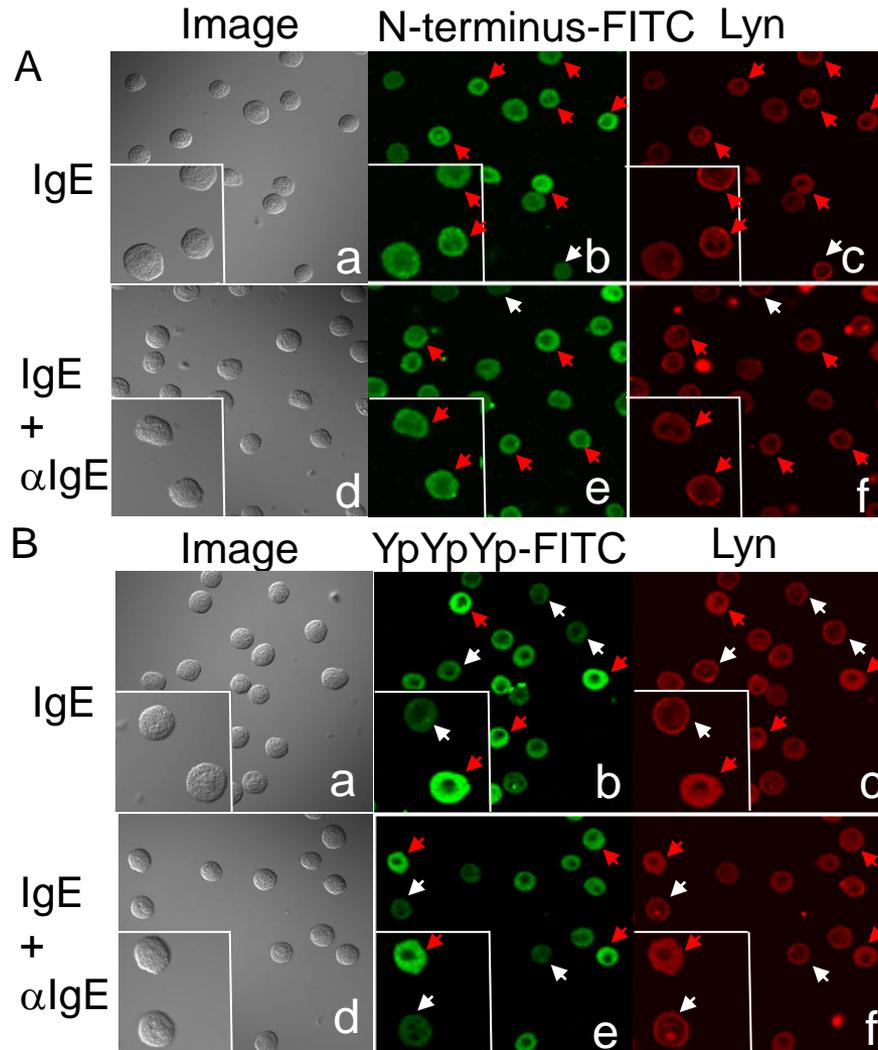
YpYpYpはIgE依存性のヒトマスト細胞からの脱顆粒を有意に抑制



YpYpYpはIgE依存性のヒトマスト細胞からのPGD₂産生を有意に抑制

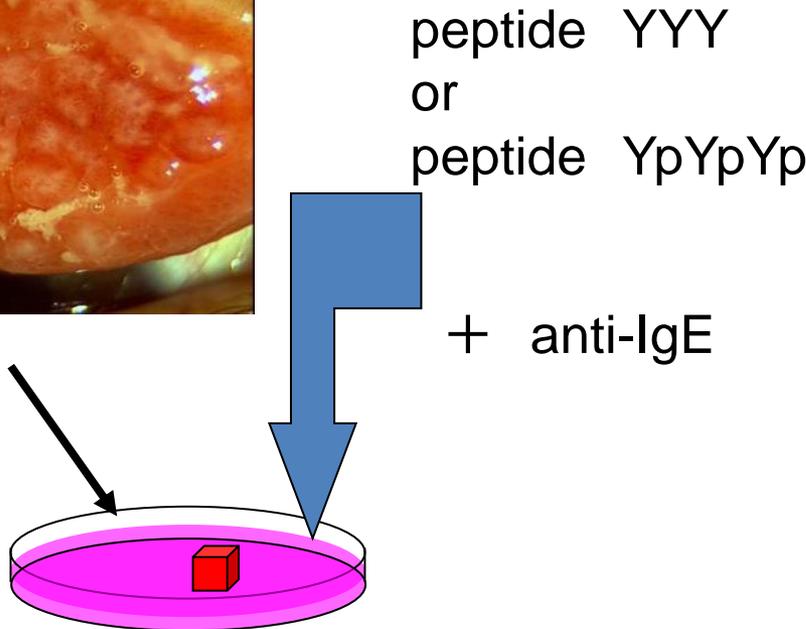


YpYpYpは内在性のLynに結合し、細胞活性化後に細胞膜への移行を阻害

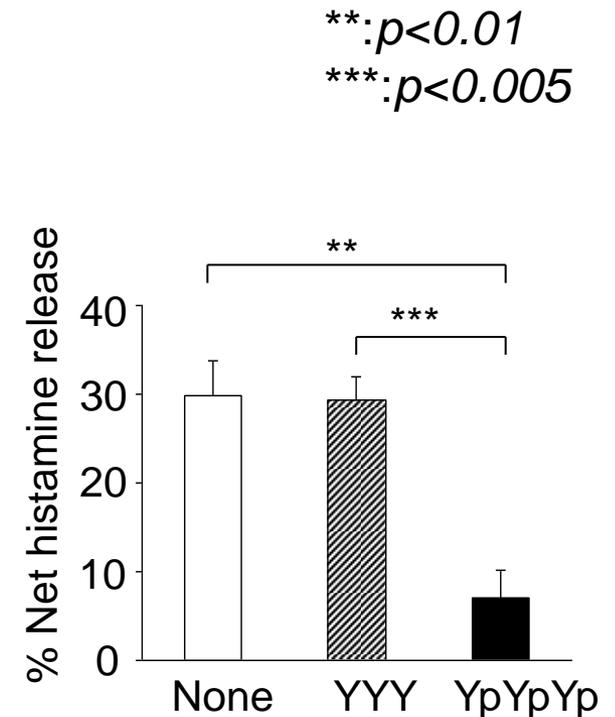


Ring-like stained cells for anti-Lyn mAb were counted as positive cells.

FcεRIβ鎖のITAM のチロシン残基をリン酸化させたペプチドがアレルギー患者の粘膜組織におけるヒトマスト細胞の活性化を *ex vivo* で抑制した



春季カタルの巨大乳頭手術組織切片



FcεRIβ鎖のITAMのチロシン残基をリン酸化させたペプチドがアレルギー患者の粘膜組織におけるヒトマスト細胞の活性化を*ex vivo*で抑制した結果から、このペプチドはアレルギー疾患の新規治療薬となりうるということである。特に、軟膏、点眼、点鼻、吸入といった局所投与での効果が期待できる。

対象疾患：アトピー性皮膚炎、花粉症、アレルギー性喘息

FcεRIβ鎖はマスト細胞と好塩基球にしか発現しておらず、しかも、ヒトのアレルギー疾患の病変部でのFcεRIβ鎖は発現増強しており、FcεRIβ鎖を治療標的としているため副作用の危険性が低いと考えられる。

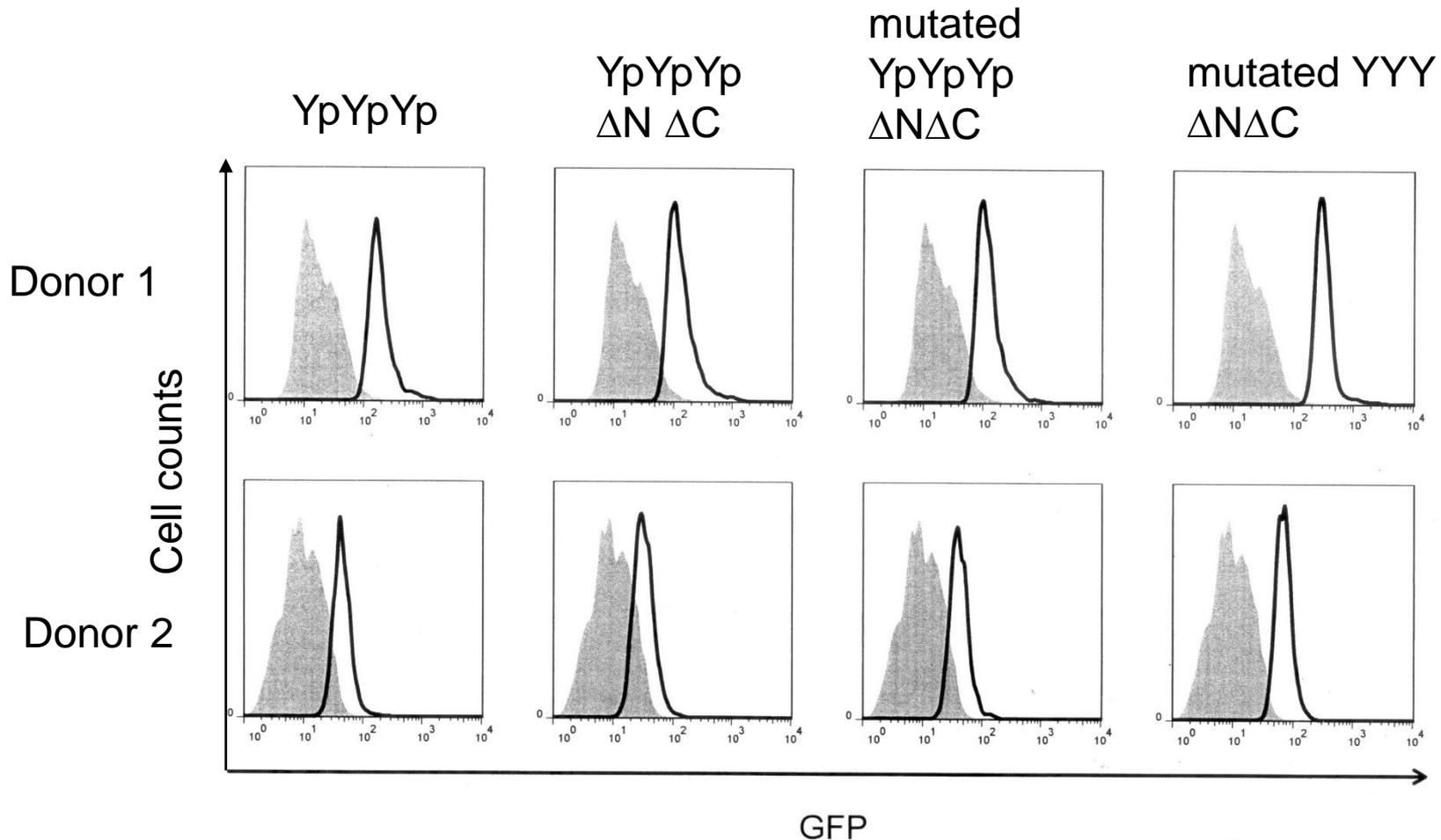
1. ペプチドはプロテアーゼによって分解される。
2. 細胞内デリバリーの問題。
3. アレルギー疾患の新規治療薬として開発するためには 25アミノ酸からなるため、このなかで必須のアミノ酸だけを残し、短縮する必要がある。

AAVLLPVLLAAP-KVPEDRV-pY-EELNI-pY-SAT-pY-SELEDPG-NH₂

membrane-translocating motif

FcεRI β ITAM 25 アミノ酸

N末C末を削ったペプチドも細胞内移行した



1. ペプチド薬の投与方法の技術。
2. 細胞内導入ペプチド部分を、企業が特許を持つシーケンスあるいは、企業と共同で探索したシーケンスに変えること。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : アレルギー性疾患治療
- 登録番号 : 特許第5858402号
- 出願人 : 日本大学
- 発明者 : 岡山 吉道、羅 智靖

産学連携の経歴

- 平成23年度-24年度 JST A-STEP FS探索タイプ
に採択

お問い合わせ先

日本大学産官学連携知財センター

TEL **03-5275-8139**

FAX **03-5275-8328**

e-mail **nubic@nihon-u.ac.jp**