

慢性特発性蕁麻疹患者血漿中の脂質メディエーター
プロファイルの同定と病態との関係性について(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程

内科系皮膚科学専攻

伊東 真奈

修了年 2021 年

指導教員 藤田 英樹

背景

蕁麻疹とは、「膨疹、すなわち紅斑を伴う一過性、限局性の浮腫が病的に出現する疾患であり、多くは痒みを伴う」と定義され、膨疹とそう痒が30分から24時間の間に自然消失することが特徴とされている¹。その中でも、慢性特発性蕁麻疹（chronic spontaneous urticaria ; CSU）は、特定の誘発因子がなく、6週間以上にわたり症状を繰り返すものを言い、蕁麻疹患者全体の約70%を占める。蕁麻疹は、何らかの刺激を受け、真皮のマスト細胞が脱顆粒することで惹起されると考えられている。マスト細胞の顆粒に含まれるヒスタミンなどの化学伝達物質の放出により、皮膚微小血管の拡張、血漿成分の漏出が起これ、膨疹、紅斑が形成される。

CSU患者の膨疹部の病理組織では、マスト細胞が増加するという報告がある一方で^{2,3}、増加はしないという報告もある^{4,5}。CSUにおけるマスト細胞の増減には議論の余地があるが、膨疹部でマスト細胞の脱顆粒像が観察されること、皮膚組織液中でヒスタミンが増加すること⁶、蕁麻疹の治療の主体が抗ヒスタミン薬であることなどから、マスト細胞はCSUの病態の中心的役割を担っていると考えられている。

CSU患者の末梢血では、好塩基球数は減少しており⁷、病変部の皮膚に好塩基球が浸潤しているという報告がある⁸。また、CSUの重症度と末梢血好塩基球数には負の相関関係がある⁹。好塩基球の反応性に関しては、CSU患者の好塩基球は健常人（Normal Control ; NC）と比較し、高親和性IgE受容体（high affinity receptor for IgE ; FcεRI）を介した刺激に対する反応性は低下するが¹⁰、FcεRIを介さない刺激に対する反応性は低下しないと報告されている¹¹。さらにCSU患者にヒト化抗IgEモノクローナル抗体であるオマリズマブの治療を行うと、好塩基球の反応性は上昇し、末梢血の好塩基球数は増加する^{12,13}。このようにCSUの治療前後では、好塩基球の動態に大きな変化があり、好塩基球もマスト細胞とともにCSUの病態に深く関わっていると考えられている。

これまでに、ヒスタミンやサブスタンスPなどがCSUの原因であると報告されているが^{14,15}、単独の因子のみでは発症に至らず、さまざまな因子が複合的に関与し病態を形成すると考えられており、CSUの発生機序は未だ十分に解明されていない。

多価不飽和脂肪酸は、メチル末端から数えた二重結合の位置によりω6系とω3系に分けられる。リノール酸やアラキドン酸（arachidonic acid ; AA）はω6系であり、αリノレン酸や魚油に多く含まれるエイコサペンタエン酸

(eicosapentaenoic acid ; EPA)、ドコサヘキサエン酸 (docosahexaenoic acid ; DHA) などは ω 3系に分類される。哺乳動物は、これらの多価不飽和脂肪酸を体内で生合成することが出来ないため、必須栄養素として食物から摂取する必要がある。一般的に、 ω 6系脂肪酸に対して ω 3系脂肪酸の比率が高いほど、炎症性疾患やがんに対して抵抗性になるということが数多く報告されている。

ω 6系脂肪酸であるAAにシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase ; COX) が作用するとプロスタグランジン (prostaglandin ; PG) が産生され、リポキシゲナーゼ (lipoxygenase ; LOX) が作用するとロイコトリエン (leukotriene ; LT) が産生される。これらは、炎症急性期に浮腫や発赤、痛み、発熱を誘導する強力な炎症性メディエーターである。一方で、AAからはリポキシン (lipoxin ; LX) と呼ばれる抗炎症性脂質メディエーターも生成される¹⁶。その中でも、LXA₄は、LTC₄、LTD₄、LTE₄などのシステイニルロイコトリエン (CysLTs) に拮抗することで気道収縮を抑制する作用がある¹⁷。重症喘息患者の血漿中ではLXA₄の濃度が中等症の喘息患者よりも有意に低く、CysLTsの濃度は有意に高かったという報告があり¹⁸、LXA₄の低下は喘息の重症化と関係している。

従来、 ω 3系脂肪酸は、 ω 6系脂肪酸から代謝される炎症性メディエーターに拮抗することで炎症を抑制すると考えられてきたが、近年、 ω 3系脂肪酸自体にも炎症抑制作用があることが分かってきた^{19,20}。具体的には、EPA由来のレゾルビンE (resolvin E ; RvE) 系、DHA由来のレゾルビンD (resolvin D ; RvD) 系やプロテクチンD1 (protectin D1 ; PD1)、マレシン (maresin ; MAR) などである。これらの炎症抑制作用は、極めて低濃度で作用し、副腎皮質ステロイドをはじめとした免疫抑制薬とは異なり、免疫機能は抑制せずに作用することなどが特徴であると考えられている²¹。また、サイトカインとは異なり、生体内で合成されず、食事の内容に影響される点も大きな特徴である。

近年、液体クロマトグラフィーによる分離技術の向上と、質量分析の普及によって、脂質の網羅的解析が可能となった。脂質メディエーターの網羅的解析はリピドミクスと呼ばれ、脂質の包括的な研究手段として注目されている。

蕁麻疹では、ヒスタミンの脱顆粒反応以外にもPGやLT、血小板活性化因子 (platelet-activating factor ; PAF) などの脂質メディエーターもマスト細胞から放出され、炎症の形成に関与する。蕁麻疹治療の第一選択は、抗ヒスタミン薬の内服であるが、抗ヒスタミン薬で効果不十分な場合、補助治療薬としてロイコトリエン受容体拮抗薬の内服が推奨されている。また、ヒスタミンとPAFの双方を阻害する薬剤も蕁麻疹治療に用いられていることから²²、脂質メディエーターは蕁麻疹の病態を形成する要因の一つであるということが分かる。

目的

CSU の病態に脂質メディエーターが関わっていることは確かであるが、どのような脂質メディエーターがどの程度存在し、病態形成に関与するかという詳細な機序は不明である。本研究では、リポドミクスを用いて、CSU 患者血漿中の脂質メディエーターの量的・質的特徴を明らかにし、疾患予測や重症度評価に有用なバイオマーカーを同定すること、CSU の病態における脂質メディエーターの役割を解明することを目的とした。

方法

CSU 患者 67 人、NC27 人の合計 94 人を対象とした。対象者の血漿から固相抽出法で酸化脂肪酸を抽出し、液体クロマトグラフィー質量分析計を用いて解析した。蕁麻疹の重症度は、UAS7 (7 day Urticaria Activity Score) と UCT (urticaria control test) を用いて評価した。CSU 患者群と NC 群の男女比、年齢、重症度、罹患期間、血清 IgE 値、末梢血白血球数を比較した。統計学的解析は、Mann-Whitney-U test、Fisher's exact test、Spearman の順位相関係数、また、疾患予測バイオマーカーの探索には、二項ロジスティック解析の変数減少法 (条件付き) を用いた。p 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意と判断した。

結果

AA から 5-LOX を介して代謝される LTE₄ と 5-HETE (5-hydroxyeicosatetraenoic acid) は、CSU 患者群で有意に高値であった。また、DHA から 5-LOX を介して代謝される RvD₂、EPA から 5-LOX を介して代謝される 5-HEPE (5-hydroxyeicosapentaenoic acid) も CSU 患者群で有意に高値であった。不飽和脂肪酸全体でみると、CSU 患者血漿中では 5-LOX 系の代謝物が高値となる傾向がみられた。また、AA 代謝物の LXA₄ は、CSU 患者群で NC 群と比較し有意に低値であることから、喘息と同様に、抗炎症性脂質メディエーターである LXA₄ の低下と、炎症性メディエーターである LTE₄ (CysLTs) の過剰といった炎症・抗炎症バランスの破綻が病態に関与していると考えられた。

一方で、 ω 3 系脂肪酸由来の抗炎症性脂質メディエーターである PD1 と RvD₂ は、CSU 患者群で有意に高値であった。CSU などの慢性炎症の病態では、恒常的にこれらの抗炎症性メディエーターの産生が亢進している可能性が示唆された。

12-HETE (12-hydroxyeicosatetraenoic acid) と 12-HEPE (12-hydroxyeicosapentaenoic acid) は、CSU の重症度と末梢血好塩基球数の両方と有

意に相関し、12-HETE と 12-HEPE の血漿中の濃度が低い程、末梢血好塩基球数は低く、CSU は重症であるということが明らかになった。これは、CSU の重症度と末梢血好塩基球数には負の相関関係がある⁹という過去の報告と一致する結果であった。したがって、12-HETE と 12-HEPE は、CSU の重症度を反映する有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

CSU 患者群と NC 群の 2 群間において有意差を示した脂質メディエーターを二項ロジスティック解析の変数減少法（条件付き）を用いて解析した。5-HETE と PD1 が同定されたが、**odd ratio** が 1 付近と低いため、この解析では CSU の疾患予測バイオマーカーは見つからなかった。しかしながら、5-HETE のみが有意差を示したため、5-HETE の病態への関与を調べるために、好塩基球活性化試験（Basophil Activating Test ; BAT）を行った。その結果、5-HETE がヒト好塩基球の IgE 依存性の反応を増強することが明らかになった。

5-HETE は AA から 5-LOX の働きで合成される脂質メディエーターであり、その受容体は OXE 受容体で、好酸球、好中球、単球、好塩基球などに発現している²³。過去の論文では、5-HETE とその前駆物質である 5-HPETE (5-hydroperoxyicosatetraenoic acid) は、ヒト好塩基球からの抗原誘発性のヒスタミン放出を増強する作用があるということが報告されており²⁴、さらに、好塩基球やマスト細胞自体も 5-HETE を産生していることが分かっている^{25,26}。以上から、5-HETE は好塩基球の機能を制御する役割があると考えられた。

5-HETE は、NC 群と比較し CSU 患者において有意に高値を示し、末梢血好塩基球数と有意な正の相関を示した脂質メディエーターであるが、今回の研究で IgE 依存性の好塩基球の活性化を増強させることが分かり、CSU の病態の増悪因子であることが考えられた。

結語

本研究からは、炎症性脂質メディエーターの上昇だけでなく抗炎症性脂質メディエーターの低下による炎症収束機能の異常が CSU の病態に関与している可能性が示唆された。12-HETE と 12-HEPE においては CSU の重症度を反映する有用なバイオマーカーになる可能性が示唆された。5-HETE は CSU の病態の増悪因子であることが示唆され、5-HETE の受容体である OXE 受容体選択的拮抗薬が CSU の新規治療ターゲットとなると考えた。

Reference

- 1 Zuberbier T, Aberer W, Asero R, *et al.* The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2018; **73**:1393–414.
- 2 Elias J, Boss E, Kaplan AP. Studies of the cellular infiltrate of chronic idiopathic urticaria: prominence of T-lymphocytes, monocytes, and mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1986; **78**:914–8.
- 3 Nettis E, Dambra P, Loria MP, *et al.* Mast-cell phenotype in urticaria. *Allergy* 2001; **56**:915–915.
- 4 Smith CH, Kepley C, Schwartz LB, Lee TH. Mast cell number and phenotype in chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1995; **96**:360–4.
- 5 Bédard PM, Brunet C, Pelletier G, Hébert J. Increased compound 48/80 induced local histamine release from nonlesional skin of patients with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1986; **78**:1121–5.
- 6 Kaplan AP, Horáková Z, Katz SI. Assessment of tissue fluid histamine levels in patients with urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1978; **61**:350–4.
- 7 Grattan CEH, Walpole D, Francis DM, *et al.* Flow cytometric analysis of basophil numbers in chronic urticaria: Basopenia is related to serum histamine releasing activity. *Clin Exp Allergy* 1997; **27**:1417–24.
- 8 Ito Y, Satoh T, Takayama K, *et al.* Basophil recruitment and activation in inflammatory skin diseases. *Allergy* 2011; **66**:1107–13.
- 9 Grattan CEH, Dawn G, Gibbs S, Francis DM. Blood basophil numbers in chronic ordinary urticaria and healthy controls: Diurnal variation, influence of loratadine and prednisolone and relationship to disease activity. *Clin Exp Allergy* 2003; **33**:337–41.
- 10 Endo T, Toyoshima S, Hayama K, *et al.* Patients who have anti-FcεRI nonreactive basophils do not represent patients with severe chronic spontaneous urticaria. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; **8**:824-825.e2.
- 11 Luquin E, Kaplan AP, Ferrer M. Increased responsiveness of basophils of patients with chronic urticaria to sera but hypo-responsiveness to other stimuli. *Clin Exp Allergy* 2005; **35**:456–60.
- 12 Macglashan DW, Saini SS. Omalizumab increases the intrinsic sensitivity of human basophils to IgE-mediated stimulation. *J Allergy Clin Immunol* 2013; **132**:906–11.
- 13 Saini SS, Omachi TA, Trzaskoma B, *et al.* Effect of Omalizumab on Blood Basophil Counts in Patients with Chronic Idiopathic/Spontaneous Urticaria. *J Invest Dermatol* 2017; **137**:958–61.

- 14 Kaplan AP, Horáková Z, Katz SI. Assessment of tissue fluid histamine levels in patients with urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1978; **61**:350–4.
- 15 Metz M, Krull C, Hawro T, *et al.* Substance P is upregulated in the serum of patients with chronic spontaneous urticaria. *J Invest Dermatol* 2014; **134**:2833–6.
- 16 Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B. Lipoxins: novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci* 1984; **81**:5335–9.
- 17 Chiang N, Serhan CN, Dahlén S-E, *et al.* The Lipoxin Receptor ALX: Potent Ligand-Specific and Stereoselective Actions in Vivo. *Pharmacol Rev* 2006; **58**:463–87.
- 18 Levy BD, Bonnans C, Silverman ES, *et al.* Diminished Lipoxin Biosynthesis in Severe Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; **172**:824–30.
- 19 Arita M. Mediator lipidomics in acute inflammation and resolution. *J Biochem* 2012; **152**:313–9.
- 20 Serhan CN. Novel Pro-Resolving Lipid Mediators in Inflammation Are Leads for Resolution Physiology. *Nature* 2014; **510**:92–101.
- 21 Bannenberg G, Serhan CN. Specialized pro-resolving lipid mediators in the inflammatory response: An update. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* 2010; **1801**:1260–73.
- 22 Mullol J, Bousquet J, Bachert C, *et al.* Rupatadine in allergic rhinitis and chronic urticaria. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol* 2008; **63**:5–28.
- 23 Grant GE, Rokach J, Powell WS. 5-Oxo-ETE and the OXE receptor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2009; **89**:98–104.
- 24 Peters SP, Siegel MI, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Lipoxygenase products modulate histamine release in human basophils. *Nature* 1981; **292**:455–7.
- 25 Macchia L, Hamberg M, Kumlin M, *et al.* Arachidonic acid metabolism in the human mast cell line HMC-1: 5-lipoxygenase gene expression and biosynthesis of thromboxane. *Biochim Biophys Acta - Lipids Lipid Metab* 1995; **1257**:58–74.
- 26 Bando T, Fujita S, Nagano N, *et al.* Differential usage of COX-1 and COX-2 in prostaglandin production by mast cells and basophils. *Biochem Biophys Reports* 2017; **10**:82–7.