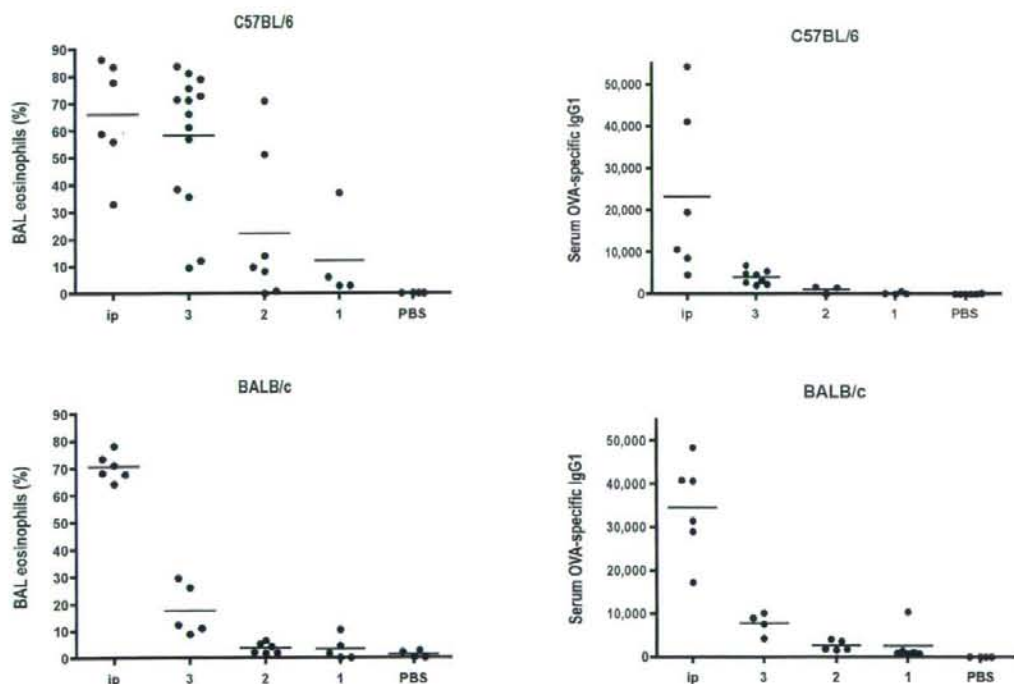


図1. 腹腔内あるいは経皮抗原感作マウスにおける気道炎症と抗原特異的抗体産生

卵白アルブミン (OVA) をハプテン (アラム・百日咳菌ワクチン) とともに腹腔内投与 (ip) するか、正常皮膚に卵白アルブミンのみを吸収させたパッチを1~3週間貼付 (1, 2, 3)、あるいはPBSのみを吸収させたパッチを3週間貼付 (PBS) したマウス (C57BL/6 あるいは BALB/c マウス) に2%卵白アルブミンを吸入させた。OVA 吸入24時間後に気管支肺胞洗浄と採血を行い、BAL 細胞中好酸球比率と血清 OVA 特異的 IgG1 の測定を行った。



簡易同定法によるアトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子変異解析

研究分担者 海老原 全 慶應義塾大学医学部皮膚科学 専任講師

研究要旨 本研究では日本人アトピー性皮膚炎患者 DNA を用いて、日本人特有のフィラグリン遺伝子変異のデータ蓄積を目指し、さらにアトピー性皮膚炎の臨床的な特徴に相関して高頻度に認められる遺伝子変異部位の傾向との関係 (genotype-phenotype co-relation) について検討を行うため、これまで慶應義塾大学病院皮膚科を受診されたアトピー性皮膚炎患者 129 名のフィラグリン遺伝子について、その繰り返し配列のユニット数が異なる 3 種類のバリエーション、および 3 種類のヨーロッパ型、4 種類のアジア型遺伝子変異を、PCR、制限酵素処理、sequencing を組み合わせることによって新たに確立した簡易同定法を用いて解析した。遺伝子変異解析では 4 種類すべてのアジア型遺伝子変異が認められ、ヨーロッパ型変異は見られず、その比率は患者全体のうちのおよそ 1 割で、9.3% (129 名中 12 名) であった。これまでのところ遺伝子変異とアトピー性皮膚炎の臨床型に明らかな関連性や特徴的な事象は認められていないが、今後、さらに多くのデータを集積することにより何らかの相関が見られる可能性が期待される。

共同研究者

河野通良

慶應義塾大学医学部皮膚科学 共同研究員

工藤 純

慶應義塾大学医学部分子生物学 准教授

佐々木貴史

慶應義塾大学医学部分子生物学 助教

まで日本人を含むアジア民族での大規模な遺伝子解析はいまだなされておらず、新たなデータの蓄積が望まれる。本研究では日本人特有のフィラグリン遺伝子変異のデータ蓄積を目指すことを目的とし、慶應義塾大学病院皮膚科を受診されたアトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子変異解析を行った。さらに、フィラグリン遺伝子を含めた皮膚バリア機能蛋白遺伝子の変異と、アトピー性皮膚炎の臨床型との関連 (いわゆる genotype-phenotype correlation) について解析する

A. 研究目的

これまでに McLean らにより、欧米の多くのアトピー性皮膚炎患者および気管支喘息患者がフィラグリン遺伝子に変異を持つことが明らかにされた (Nat Genet, 2007)。一方、野村らにより、日本人のアトピー性皮膚炎に見られる遺伝子変異は欧米患者のものとは異なることが報告されており (J Allergy Clin Immunol 2007)、同じアジア系民族である中国人や韓国人の遺伝子解析結果においても同様の遺伝子変異が報告されている。異なる民族で見られる遺伝子変異部位の違いと病型の違いを解析することにより、皮膚バリア機能関連遺伝子変異とアトピー性皮膚炎の病態との関連についての研究が可能となると考えられるが、これ

B. 研究方法

フィラグリン遺伝子は 972bp または 975bp を一単位とする 11~13 回の繰り返し配列を持つため、従来の手法では塩基配列の決定が困難であったが、新たに開発された FLG-shotgun 法により、その遺伝子解析が可能となった。この手法を用いて 24 名の患者 DNA を解析したところ、フィラグリン遺伝子にはその繰り返し配列のユニット数が異なる 3 種類のバリエーション (タイプ A (11 ユニット), B (13 ユニット), C (12 ユニ

ット)) が存在すること、2種類の新規ナンセンス変異 8666-8667 CC>GA (S2899X), 9887 C>A (S3296X) があることがわかった。これら2種類の変異に加え、これまで報告された既知のヨーロッパ型、アジア型の各遺伝子変異と、フィラグリン遺伝子の3種類のバリエーションについて解析を行うための簡易同定法を、それぞれPCR、制限酵素処理、sequencingを組み合わせてることによって確立し、さらなる解析を行った。

C. 研究結果

これまでに計129名のアトピー性皮膚炎患者におけるフィラグリン遺伝子解析を行った。フィラグリン遺伝子タイプについては、A/A:11名(8%)、A/B:58名(45%)、A/C:6名(5%)、B/B:42名(32%)、B/C:10名(8%)、C/C:2名(2%)であった。アレルとしてはBタイプが152(59%)と最も多く、Aタイプが86(33%)、Cタイプが20(8%)であった。遺伝子変異については、ヨーロッパ型変異(1537C/T, 2282del14, 3702del1G)はみとめられず、アジア型変異では8666-8667 CC>GA:4名(3%)、9887 C>A:4名(3%)、7661 C>G:2名(1.5%)、3321del1A:2名(1.5%)が認められた。フィラグリン遺伝子変異を有する患者は計12名で、患者全体の9%であった。

D. 考察

これまでに報告された解析結果では、ヨーロッパ人種のアトピー性皮膚炎患者には40%以上の確率でフィラグリン遺伝子が認められるとされている。一方、日本人では、野村らが7661 C>G、3321del1Aの2種類の変異について解析を行った結果、5.6%の確率で、7661 C>G、3321del1Aに加えて8666-8667 CC>GA、9887 C>Aの4種類の変異について解析を行った結果、20%以上の確率で遺伝子変異を認めたことを報告している。本研究結果では、3種類のヨーロッパ型変異、4種類のアジア型変異について解析した結果、アジア型の変異のみを9%の確率で認め、確率としては既報告例に比べて低いものの、全体の傾向としてはこれまでの解析結果と大きな違いはないと考えられた。フィラグ

リン遺伝子タイプについては、13ユニットの繰り返し配列を持つBタイプが59%と最多であった。これまでにフィラグリン遺伝子タイプについての検討を行った報告はなく、今後、症例数を増やしていくことにより何らかの相関が認められることが期待される。

現時点での解析では、皮膚バリア機能蛋白の遺伝子変異とアトピー性皮膚炎の臨床型に明らかな関連性や特徴的な事象を認めなかった。今後、さらに多くのデータを収集することにより何らかの相関が見られる可能性が期待される。

E. 結論

日本人アトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子変異解析の結果、アジア人種特有の変異のみが認められた。

臨床型と遺伝子変異との相関については、今のところ明らかな関連は見られていないが、現在さらに患者を集積しているところであり、再度これらの臨床型をまとめて、皮膚バリア機能遺伝子変異との関連性を追加検討する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (平成20年度)

1. 論文発表
英語論文
なし
日本語論文
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

皮膚の乾燥を防ぐ適切な生活習慣と保湿スキンケアの教育による アトピーマーチの予防に関する小・中学生を対象とした検討

研究分担者 加藤則人 京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学 准教授

研究要旨 アトピー性皮膚炎において、乾燥した皮膚からアレルゲンが侵入して始まったアレルギーは、成長とともに喘息やアレルギー性鼻炎を次々に発症するアトピーマーチを引き起こすと考えられる。われわれが10年前から行っている小中学生を対象とした皮膚検診では、湿疹病変がない乾燥皮膚のみを呈する小児においても、血清総IgE値やダニ・スギ特異IgE値が上昇しており、小学1年時に乾燥皮膚を呈していた小児は、5年後に約4割がアレルギー性鼻炎を発症したことから、皮膚の乾燥はアトピー性皮膚炎だけでなく、アトピーマーチの進展に関与している可能性が示唆された。そこで、小児の入浴や暖房などの生活習慣に関する実態を調査した後、乳幼児期から皮膚の乾燥を防ぐ適切な生活習慣と保湿スキンケアを、乳幼児の保護者に指導して実践を促す教育介入を行い、乳幼児期から皮膚の乾燥を防ぐことで、アトピーマーチを予防できる可能性を検討する疫学的研究を開始した。

共同研究者

若森健

京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学
研究員

小笹晃太郎

財団法人放射線影響研究所 疫学部部長

A. 研究目的

乾燥皮膚から侵入した吸入アレルゲンによって成立した感作は、その後喘息やアレルギー性鼻炎を次々に発症するアトピーマーチを引き起こすと考えられる。これまでのわれわれの検討ではアトピー性皮膚炎や喘息、花粉症がみられない軽度の乾燥皮膚のみを呈する小児においても、血清総IgE値やダニ・スギ特異IgE値が上昇していた。これは、表皮バリア機能が低下している小児では、環境中のアレルゲンへの経皮的感作が成立しやすく、将来喘息やアレルギー性鼻炎などの発症につながる可能性を示唆している。本研究では、小児の入浴や暖房などの生活習慣に関する実態を調査した後、乳幼児期から皮膚の乾燥を防ぐ適切な生活習慣と保湿スキンケアを、乳幼児の保護者に指導して実践を促すことによって、アトピーマーチを予防できる可能性を検討することを目的とする。また、乾燥皮膚だけを

呈する児童の数年後の喘息や花粉症の発症の有無を検討することで、乾燥皮膚とアトピーマーチの関係を疫学的に実証することを目的とする。

B. 研究方法

京都府山間部の一小・中学校の全児童・生徒を対象として、アトピー性皮膚炎や乾燥皮膚の有無に関する皮膚の検診を行うとともに、喘息やアレルギー性鼻炎の有無について質問票による調査を行う。また全児童・生徒から血液を採取し、血清総IgE値やダニ・スギ特異IgE値を測定し、乾燥皮膚と血清IgE値の関係について解析する。また、適切な入浴法・暖房法および保湿スキンケアの方法とその意義に関する教育介入（図1）を行う前後に、入浴方法や暖房方法などの生活習慣、保湿スキンケアに関する質問票調査を行い、実態の把握と教育効果に関する検討を行う。さらに、数年前に乾燥皮膚を呈していた児童のアトピー疾患発症の有無を追跡調査する。

C. 研究結果

今年度のアトピー性皮膚炎の有病率は11.6%、乾燥皮膚のみを呈する小児は4.6%であった。過去10年間と同様に、喘息や花

粉症を合併せず、アトピー性皮膚炎の診断基準を満たす湿疹病変がみられない乾燥皮膚のみを呈する小児においても、血清総IgE値やダニ・スギ特異IgE値が有意に上昇していた。

また、以前のデータから小学生時にアトピー性皮膚炎や喘息、花粉症を合併せず、乾燥皮膚だけを呈したものを追跡調査したところ、5年後に花粉症を発症する率が38.5%と、同年代の花粉症の有病率の約2倍の高さであった。

一方、皮膚の乾燥を防ぐ適切な入浴法や暖房法、保湿のスキンケアの意義と具体的な方法に関する教育資料による教育介入を小中学生を対象として行い、その前後に入浴法や暖房法などの生活習慣、保湿スキンケアの実態に関する質問票による調査を行ったが、明らかな教育効果がみられなかった。

そこで今年度からは教育効果を高めるため、乳幼児健診を受診した保護者全員（同町で出生した乳幼児の保護者全員）に対して上記の内容の個別対面指導を行うことで、教育効果を高めた。今後、同様の指導を数年間続け、皮膚の乾燥を防ぐ適切な入浴法や暖房法、保湿のスキンケアの意義と具体的な方法を継続的に実践してもらう。

D. 考察

喘息や花粉症を合併せず、アトピー性皮膚炎の診断基準を満たす湿疹病変がみられない乾燥皮膚のみを呈する小児においても、血清総IgE値やダニ・スギ特異IgE値が有意に上昇していること、さらには乾燥皮膚のみを呈する児童が将来花粉症を発症する率が高いことを示した報告は過去にみられない。表皮バリア機能の低下によって環境中のアレルゲンへの経皮的感作が成立しやすくなり、他臓器のアトピー疾患の発症につながるという仮説を、疫学的に実証した点で興味深い。

教育介入は、より早い時期から行った方がアトピーマーチへの予防効果が高いと考え、今年度からは教育の対象を同町内の乳幼児健診に参加する保護者全員へと拡大した。一方、教育資料による教育では明らかな生活様式の変化という効果がみられなかったため、今年度からは教育効果を高めるため個別対面指導を行うこととしており、

その効果が期待される。

E. 結論

皮膚の乾燥が、アトピーマーチの入り口であることを疫学的研究で示した。

これまでに行ってきた疫学調査の結果をhistorical controlとして、皮膚の乾燥を防ぐ教育介入を数年以上にわたって継続していき、アトピーマーチに対する予防効果に関する検討を遂行していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成20年度）

1. 論文発表

英語論文

1. Katoh N. Platelets as versatile regulators of cutaneous inflammation. *J Dermatol Sci* 2009; 53(2):89-95.
2. Katoh N. Future perspectives in the treatment of atopic dermatitis. *J Dermatol* (in press)
3. Katoh N., Hirano S, Kishimoto S. Prognostic factors in adult patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 35; 477-483: 2008.
4. Wakamori T, Katoh N., Hirano S, Kishimoto S, Ozasa K. Atopic dermatitis, dry skin and serum IgE in children in a community in Japan. *Int Arch Allergy Immunol* 49: 103-110, 2009.
5. Nin M, Katoh N., Kokura S, Handa O, Yoshikawa T, Kishimoto S. Dichotomous effect of ultraviolet B on the expression of corneodesmosomal enzymes in human keratinocytes. *J Dermatol Sci* (in press)
6. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N., Kishimoto S. Platelets play important roles in the late phase of the immediate hypersensitivity reaction. *J Allergy Clin Immunol* (in press)
7. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N., Ueda E, Masuda K, Kishimoto S. Elevated platelet activation in patients with atopic dermatitis and psoriasis: increase in plasma levels of b-thromboglobulin and platelet factor 4.

Allergol Int 57: 391-396, 2008.

8. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Ueda E, Masuda K, Kishimoto S. Platelet-derived microparticles and soluble P-selectin as platelet activation markers in patients with atopic dermatitis. **Clin Immunol** (in press).
 9. Nakai A, Katoh N, Kishida T, Ueda E, Takenaka H, Mazda O, Kishimoto S. Immunoregulatory T cells in the peripheral blood of melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cell vaccination. **J Dermatol Sci** (in press).
 10. Nakai A, Katoh N, Kitagawa T, Ueda E, Takenaka H, Kishimoto S. Evaluation of survival in Japanese stage IV melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cells. **J Dermatol** (in press)
 11. Ueta M, Hamuro J, Ueda E, Katoh N, Yamamoto M, Kinoshita S. Stat6 independent tissue inflammation occurs selectively on the ocular surface and perioral skin of $I\kappa B\zeta^{-/-}$ mice. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 49: 3387-3394, 2008.
- myeloid suppressor cells increase in chronic contact dermatitis by repeated hapten application. The 5th International Investigative Dermatology 2008. Kyoto, Japan. 2008. 5.15
2. Katoh N, Hirano S, Kishimoto S. Prognostic factors of adult patients with atopic dermatitis. The 5th Georg-Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis. Kyoto Japan. 2008. 5.12.
 3. Nin M, Katoh N, Kokura S, Handa O, Yoshikawa T, Kishimoto S. Dichotomous effect of ultraviolet B on the expression of corneodesmosomal enzymes in human epidermal keratinocytes. The 5th International Investigative Dermatology 2008. Kyoto, Japan. 2008. 5.15
 4. Wakamori T, Katoh N, Hirano S, Kishimoto S, Ozasa K. Atopic dermatitis, dry skin and serum IgE in children in a community in Japan. The 5th Georg-Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis. Kyoto Japan. 2008.5.12.
 5. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Ueda E, Masuda K, Kishimoto S. Increased platelet activation markers in patients with atopic dermatitis. The 5th Georg-Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis. Kyoto Japan. 2008. 5.12.
 6. Ueda E, Kugo S, Katoh N, Kishimoto S. EMDR, a more developed method, for controlling habitual scratching from traumatic memories of AD patients. The 5th Georg-Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis. Kyoto Japan. 2008. 5.12.
 7. 加藤則人, 上田英一郎, 岸本三郎. 乾癬患者の QOL. 第 71 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. シンポジウム「乾癬治療で新しい展開はあるか?」. 2008. 2. 9. 東京都.
 8. 加藤則人. 患者のための乾癬外用療法. どの外用薬を選択すべきか. 第 107 回日本皮膚科学会総会ランチョンセミナー. 第 107 回日本皮膚科学会総会. 2008. 4. 19. 京都市.
 9. 加藤則人. 患者の満足度を高める乾癬の外用療法. 第 107 回日本皮膚科学会

日本語論文

1. 加藤則人. QOL を考えることで何が変わるか? **Progress in Medicine** 28: 774-775, 2008.
2. 加藤則人. 接触皮膚炎マニュアル. いわゆる手湿疹をめぐって. -原因・悪化因子と対処法-. **Monthly Book Derma** 139; 65-69, 2008.
3. 上田英一郎, 加藤則人, 岸本三郎. 皮膚疾患”難病”診療の最前線. **京都府立医大雑誌**. 117; 613-620, 2008.
4. 加藤則人. 「かゆみ Update」. かゆみを止めるにはどうすればいいのか? **Minophagen Medical Review**. (印刷中).
5. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療・最近の進歩. **日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌** (印刷中).
2. 学会発表
1. Katoh N, Tamagawa-Mineoka R, Kotani H, Masuda K, Kishimoto S. $CD11b^+/Gr-1^+$

総会. イブニングセミナー, 2008. 4. 19. 京都市.

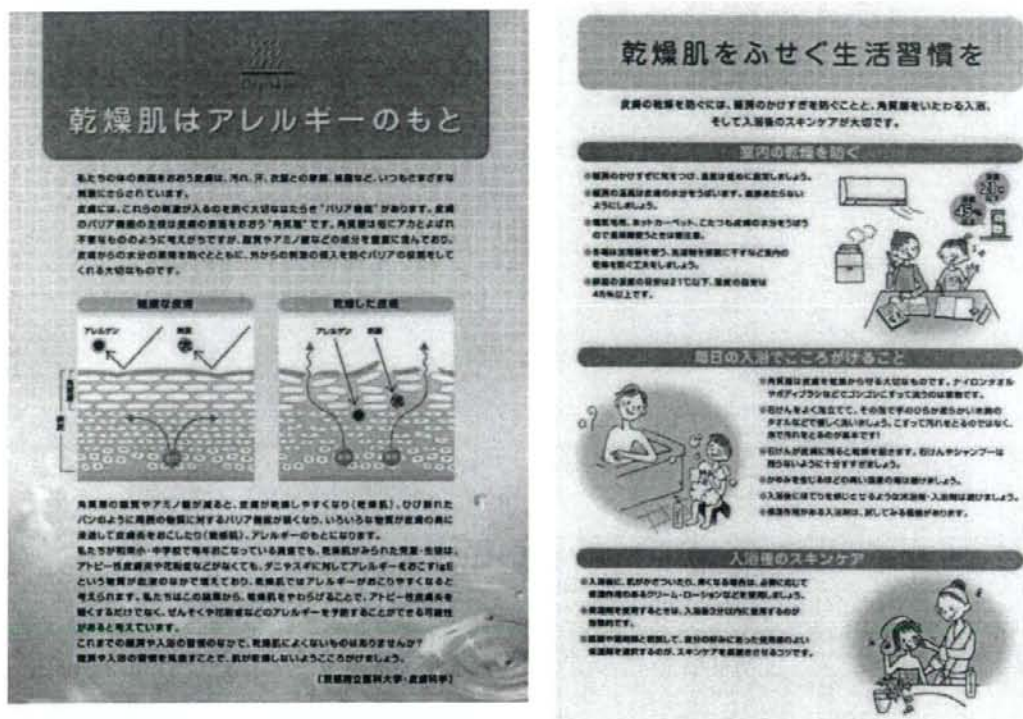
10. 加藤則人、若森健、小笹晃太郎、岸本三郎. 小・中学生の入浴習慣と暖房についての質問票による調査. 第20回日本アレルギー学会春期臨床大会ミニシンポジウム, 2008. 6. 12. 東京都.
11. 峠岡理沙、加藤則人、上田英一郎、益田浩司、岸本三郎. アトピー性皮膚炎患者における血小板由来マイクロパーティクルの検討. 第20回日本アレルギー学会春期臨床大会, ミニシンポジウム アトピー性皮膚炎の病態, 2008. 6. 12. 東京都.
12. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の診療に役立てたい知見とスキル. 第59回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 教育講演, 2008. 10. 13. 名古屋市.
13. 峠岡理沙、加藤則人、上田英一郎、竹

中秀也、喜多正和、岸本三郎. The role of platelets in leukocyte recruitment in chronic contact hypersensitivity induced by repeated elicitation. 第72回日本皮膚科学会東京支部学術大会, イブニングセミナー, 2009. 2. 21. 東京都.

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1: 乳幼児健診の際、保護者に配布している教育資料



皮膚の乾燥がアレルギーに関係すること、皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣の意義と、具体的な実践方法について記したA4サイズのプラスチック製カードを配布している。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

英語論文

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|---|--|---------------------------|-----|-----------|------|
| Sasaki T, <u>Kudoh J</u> , <u>Ebihara T</u> , Shiohama A, Asakawa S, Shimizu A, Takayanagi A, Dekio I, Sadahira C, <u>Amagai M</u> , Shimizu N | Sequence analysis of filaggrin gene by novel shotgun method in Japanese atopic dermatitis | J Dermatol Sci | 51 | 113-120 | 2008 |
| Nishifuji K, Sugai M, <u>Amagai M</u> | Staphylococcal exfoliative toxins: "Molecular scissors" of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals | J Dermatol Sci | 49 | 21-31 | 2008 |
| Nakashima D, <u>Kabashima K</u> , Sakabe J, Sugita K, Kobayashi T, Yoshiki R, Tokura Y | Impaired initiation of contact hypersensitivity by FTY720. | J Invest Dermatol | 128 | 2133-2141 | 2008 |
| Koga C, <u>Kabashima K</u> , Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y | Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. | J Invest Dermatol | 128 | 2625-2630 | 2008 |
| Atarashi K, <u>Kabashima K</u> , Akiyama K, Tokura Y | Skin application of the nonsteroidal anti-inflammatory drug ketoprofen downmodulates the antigen-presenting ability of Langerhans cells in mice. | Br J Dermatol | 159 | 306-313 | 2008 |
| Mori T, <u>Kabashima K</u> , Yoshiki R, Sugita K, Shiraishi N, Onoue A, Kuroda E, Kobayashi M, Yamashita U, Tokura Y | Cutaneous Hypersensitivities to Hapten Are Controlled by IFN-gamma-Upregulated Keratinocyte Th1 Chemokines and IFN-gamma-Downregulated Langerhans Cell Th2 Chemokines. | J Invest Dermatol | 128 | 1719-1727 | 2008 |
| Tokura Y, Kobayashi M, <u>Kabashima K</u> | Epidermal chemokines and modulation by antihistamines, antibiotics and antifungals. | Exp Dermatol | 17 | 81-90 | 2008 |
| <u>Katoh N</u> , Hirano S, Kishimoto S | Prognostic factors in adult patients with atopic dermatitis | J Dermatol | 35 | 477-483 | 2008 |
| Ueta M, Hamuro J, Ueda E, <u>Katoh N</u> , Yamamoto M, Kinoshita S | Stat6 independent tissue inflammation occurs selectively on the ocular surface and perioral skin of Ikbz ^{-/-} mice | Invest Ophthalmol Vis Sci | 49 | 3387-3394 | 2008 |
| Tamagawa-Mineoka R, <u>Katoh N</u> , Ueda E, Masuda K, Kishimoto S | Elevated platelet activation in patients with atopic dermatitis and psoriasis: increase in plasma levels of b-thromboglobulin and platelet factor 4 | Allergol Int | 57 | 391-396 | 2008 |
| Ikenouchi J, Sasaki H, Tsukita S, <u>Furuse M</u> , Tsukita S | Loss of occludin affects tricellular localization of tricellulin | Mol Biol Cell | 19 | 4687-4693 | 2008 |
| Miyamoto T, Momoi A, Kato K, Kondoh H, Tsukita S, <u>Furuse M</u> , Furutani-Seiki M | Generation of transgenic medaka expressing claudin7-EGFP for imaging of tight junctions in living medaka embryos | Cell Tissue Res | 335 | 465-471 | 2008 |
| Shiraishi Y, <u>Asano K</u> , Niimi K, Fukunaga K, Wakaki M, Kagyo J, Takahara T, Ueda S, Nakajima T, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T, Sayama K, Kagawa S, Ikeda E, Hirai H, Nagata K, Nakamura M, Miyasho T, Ishizaka A | Cyclooxygenase-2/Prostaglandin D2/CRTH2 pathway mediates double-stranded RNA-induced enhancement of allergic airway inflammation. | J Immunol | 180 | 541-549 | 2008 |
| Suzuki Y, <u>Asano K</u> , Niimi K, Miyata J, Shiraishi Y, Fukunaga K, Shiomi T, Nakajima T, Oguma T, Sayama K, Ishizaka A | TP receptor-mediated release of eosinophil chemotactic activity from human bronchial smooth muscle cells. | Eur J Pharmacol | 600 | 133-139 | 2008 |
| <u>Asano K</u> , Ishizaka A | Pharmacogenetics of anti-leukotriene drugs. | Clin Exp Allergy Rev | 8 | 45-49 | 2008 |

| | | | | | |
|---|---|--------------------------|----|----------|------|
| Oguma T, <u>Asano K</u> , Ishizuka A | Role of prostaglandin D2 and its receptors in the pathophysiology of asthma. | Allergol Int | 57 | 307-312 | 2008 |
| Kamiya A, Tan PL, Kubo K, Engelhard C, Ishizuka K, <u>Kubo A</u> , Tsukita S, Pulver AE, Nakajima K, Cascella NG, Katsanis N, Sawa A | PCMI is recruited to the centrosome by the cooperative action of DISC1 and BBS4 and is a candidate for psychiatric illness | Arch Gen Psychiatry | 65 | 996-1006 | 2008 |
| <u>Katoh N</u> | Platelet as versatile regulators of cutaneous inflammation | J Dermatol Sci | 53 | 89-95 | 2009 |
| Fallon PG, Sasaki T, Sandilands A, Campbell LE, Saunders SP, Mangan NE, Callanan JJ, Kawasaki H, Shiohama A, <u>Kubo A</u> , Sundberg J, Presland RB, Fleckman P, Shimizu N, <u>Kudoh J</u> , Irvine AD, <u>Amagai M</u> , McLean WHI | A homozygous frameshift mutation in the murine filaggrin gene facilitates enhanced percutaneous allergen priming | Nature Genetics | | in press | |
| Yoshiki R, <u>Kabashima K</u> , Sugita K, Atarashi K, Shimauchi T, Tokura Y | IL-10-Producing Langerhans Cells and Regulatory T Cells Are Responsible for Depressed Contact Hypersensitivity in Grafted Skin. | J Invest Dermatol | | in press | |
| <u>Katoh N</u> | Future perspectives in the treatment of atopic dermatitis | J Dermatol | | in press | |
| Wakamori T, <u>Katoh N</u> , Hirano S, Kishimoto S, Ozasa K | Atopic dermatitis, dry skin and serum IgE in children in a community in Japan | Int Arch Allergy Immunol | | in press | |
| Nin M, <u>Katoh N</u> , Kokura S, Handa O, Yoshikawa T, Kishimoto S | Dichotomous effect of ultraviolet B on the expression of corneodesmosomal enzymes in human keratinocytes | J Dermatol Sci | | in press | |
| Tamagawa-Mineoka R, <u>Katoh N</u> , Kishimoto S | Platelets play important roles in the late phase of the immediate hypersensitivity reaction | J Allergy Clin Immunol | | in press | |
| Tamagawa-Mineoka R, <u>Katoh N</u> , Ueda E, Masuda K, Kishimoto S | Platelet-derived microparticles and soluble P-selectin as platelet activation markers in patients with atopic dermatitis | Clin Immunol | | in press | |
| Nakai A, <u>Katoh N</u> , Kishida T, Ueda E, Takenaka H, Mazda O, Kishimoto S | Immunoregulatory T cells in the peripheral blood of melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cell vaccination | J Dermatol Sci | | in press | |
| Nakai A, <u>Katoh N</u> , Kitagawa T, Ueda E, Takenaka H, Kishimoto S | Evaluation of survival in Japanese stage IV melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cells | J Dermatol | | in press | |
| <u>Furuse M</u> | Knockout animals and natural mutations as experimental and diagnostic tool for studying tight junction functions in vivo | Biochim Biophys Acta | | in press | |
| <u>Furuse M</u> | The role of claudin-based tight junctions in morphogenesis | Ann New York Acad Sci | | in press | |
| Takahashi S, Iwamoto N, Sasaki H, Ohashi M, Oda Y, Tsukita S, <u>Furuse M</u> | The E3 ubiquitin ligase LNX1p80 downregulates claudins from tight junctions in MDCK cells | J Cell Sci | | in press | |
| <u>Asano K</u> , Nakade S, Shiomi T, Nakajima T, Suzuki Y, Fukunaga K, Oguma T, Sayama K, Fujita H, Tanigawara Y, Ishizuka A | Impact of pharmacokinetics on pharmacogenetic association of pranlukast in Japanese asthmatics | Respirology | | in press | |
| Kobayashi M, Yoshiki R, Sakabe J, <u>Kabashima K</u> , Nakamura M, Tokura Y | Expression of toll-like receptor 2, NOD2 and dectin-1 and stimulatory effects of their ligands and histamine in normal human keratinocytes | Br J Dermatol | | in press | |

日本語論文

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻名 | ページ | 出版年 |
|-------------------|---|----------------------------|-----|-----------|------|
| 川崎洋, 天谷雅行 | 【アレルギーマーチを検証する】気道アレルギー発症への経皮感作の影響 | Topics in Atopy | 7 | 37-42 | 2008 |
| 栞島健治 | 樹状細胞による免疫制御と臨床応用「皮膚の樹状細胞サブセットと機能」 | 実験医学 | 26 | 3250-3255 | 2008 |
| 栞島健治 | 皮膚の抗原提示細胞の分類と免疫・アレルギーの制御 | 西日本皮膚科 | 70 | 475-477 | 2008 |
| 栞島健治 | 樹状細胞のプロスタグランジン E2 による Th1 細胞の分化誘導 | 臨床免疫・アレルギー科 | 50 | 339-344 | 2008 |
| 加藤則人 | QOL を考えることで何がかわるか? | Progress in Medicine | 28 | 774-775 | 2008 |
| 加藤則人 | 接触皮膚炎マニュアル. いわゆる手湿疹をめぐって. -原因・悪化因子と対処法- | Monthly Book Derma | 139 | 65-69 | 2008 |
| 上田英一郎, 加藤則人, 岸本三郎 | 皮膚疾患”難病”診療の最前線 | 京都府立医大雑誌 | 117 | 613-620 | 2008 |
| 岩本典子, 古瀬幹夫 | 細胞間接着装置タイトジャンクションと上皮透過性 | 生体の科学 | 59 | 336-337 | 2008 |
| 堀内奈緒, 浅野浩一郎 | 気管支喘息と気道炎症 -研究の歴史的展開- | The Lung Perspectives | 16 | 21-24 | 2008 |
| 浅野浩一郎 | 脂質メディエーターと呼吸器疾患 | BioClinica | 23 | 26-30 | 2008 |
| 浅野浩一郎 | ウイルス感染による喘息・COPD 急性増悪の病態生理 | 呼吸 | 27 | 96-102 | 2008 |
| 加藤則人 | アトピー性皮膚炎の治療・最近の進歩 | 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌 | | 印刷中 | |
| 加藤則人 | かゆみを止めるにはどうすればいいのか? | Minophargen Medical Review | | 印刷中 | |

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の編集者名 | 書籍名 | 出版社名 | 出版地 | ページ | 出版年 |
|-------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------------|------------|-----|---------|------|
| 栞島健治 | 抗炎症作用のある抗菌剤 | 宮地良樹 | what's new in 皮膚科学 2008-2009 | メジカルビュー社 | 東京 | 70-71 | 2008 |
| 栞島健治 | 光線過敏症 | 山口徹, 北原光夫, 福井次矢 | 今日の治療指針 2009 | 医学書院 | 東京 | 878-880 | 2008 |
| 栞島健治 | 紫外線と表皮角化細胞 | 森田明理 | 一冊でわかる光皮膚科 | 文光堂 | 東京 | 14-16 | 2008 |
| 加藤則人 | 抗ヒスタミン・抗アレルギー薬「かゆいときに飲めばいいの?」 | 宮地良樹, 大谷道輝 | 現場の疑問に答える皮膚病治療薬 Q&A | 中外医学社 | 東京 | 234-235 | 2008 |
| 加藤則人 | アトピー性皮膚炎は遺伝しますか? | 宮地良樹, 末廣豊 | 小児の皮膚トラブル FAQ | 診断と治療社 | 東京 | 92-93 | 2008 |
| 加藤則人 | 皮脂欠乏性湿疹 | 川田暁 | よくわかる病態生理シリーズ, 第9巻「皮膚疾患」湿疹・皮膚炎群 | 日本医事新報社 | 東京 | 50-52 | 2008 |
| 加藤則人 | 自家感作性皮膚炎 | 川田暁 | よくわかる病態生理シリーズ, 第9巻「皮膚疾患」湿疹・皮膚炎群 | 日本医事新報社 | 東京 | 53-55 | 2008 |
| 浅野浩一郎 | COPD 発症と遺伝素因 | 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集 | 呼吸器コモンディーズの診療 COPD のすべて | 文光堂 | 東京 | 34-37 | 2008 |
| 加藤則人 | ステロイド外用剤と他の外用剤の比較と使い分け | 塩原哲夫 | 正しいステロイド剤の使い方. 2. 外用剤編 | 医薬ジャーナル社 | 大阪 | 56-61 | 2009 |
| 加藤則人 | 顔面病変で診断するアトピー性皮膚炎 | 宮地良樹 | 皮膚科診療最前線シリーズ 顔の皮膚病最前線 | メディカルレビュー社 | 大阪 | 60-63 | 2009 |

| | | | | | | |
|------|---|---------------|-----------------------|---------|----|-----|
| 加藤則人 | サブスペシャリティ イーを持つ皮膚科はこんなに楽しいー皮膚アレルギー | 宮地良樹 | 新・皮膚科レジデント 戦略マニュアル | 診断と治療社 | 東京 | 印刷中 |
| 加藤則人 | タクロリムス軟膏 「タクロリムスとステロイドの相違点について教えてください」 | 宮地良樹、 大谷道輝 | 薬局で役立つ皮膚科治療薬 FAQ | メディカール社 | 東京 | 印刷中 |

IV. 平成 20 年度班会議プログラム

平成 20 年度
厚生労働省科学研究費補助金 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

バリア機能障害によるアレルギー性疾患病態解明に関する研究

第 1 回班会議

研究代表者 天谷雅行

日時：平成 20 年 6 月 28 日（土）14:00～18:30

場所：慶應義塾大学医学部 総合医科学研究棟
（7 階 会議室 7）

連絡先： 〒160-8582 新宿区信濃町 35
慶應義塾大学医学部皮膚科
TEL：03-5363-3822
FAX：03-3351-6880
E-mail：nagatomi@sc.itc.keio.ac.jp



プログラム (発表時間 10 分、討論 10 分)

14:00 開会の辞

天谷雅行

14:05-14:10 本研究班の今後の方向性と目標

天谷雅行 (慶大皮膚科)

アトピー性皮膚炎及び喘息モデルマウスの作製・解析

14:10-14:30 flaky tail マウスのフィラグリン変異の発見

工藤 純¹、佐々木貴史¹、河野 通良²、川崎 洋²、久保亮治²
(¹ 慶大分子生物・先導研 GSP センター、² 慶大皮膚科)

14:30- 14:50 フィラグリン欠損マウスの作製

久保亮治、天谷雅行 (慶大皮膚科)

14:50- 15:10 バリア機能障害における表皮タイトジャンクションの異常の検討

古瀬幹夫、明石昌也 (神戸大細胞生物)

15:10- 15:30 flaky tail マウスを用いた新規アトピー性皮膚炎マウスモデルの作製

川崎 洋、久保亮治、天谷雅行 (慶大皮膚科)

15:30- 15:50 アトピー性皮膚炎モデルマウスの免疫学的解析

椛島健治、吉木竜太郎、坂部純一 (産業医大皮膚科)

15:50- 16:10 マウスモデルにおける、皮膚バリア機能障害による喘息発症リスクについての検討

浅野浩一郎 (慶大呼吸器内科)

- 休憩 (30分) -

アトピー性皮膚炎患者における 皮膚バリア機能関連蛋白遺伝子解析と疫学解析

16:40- 16:50 アトピー性皮膚炎における皮膚バリア機能蛋白遺伝子の解析

工藤純、佐々木貴史 (慶大分子生物・先導研 GSP センター)

16:50- 17:10 簡易同定法によるアトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子変異解析

河野通良 1、海老原全 1、佐々木貴史 2、工藤 純 2
(1 慶大皮膚科、2 慶大分子生物)

17:10- 17:20 アトピー性皮膚炎における皮膚バリア機能臨床的解析

海老原 全 1、定平知江子 1、川崎 洋 1、河野通良 1、出来尾 格 2、天谷雅行 1
(1 慶大皮膚科、2 島根大皮膚科)

17:20- 17:40 小・中学生の入浴習慣と暖房に関する質問票による調査

加藤則人 1、若森健 1、岸本三郎 1、小笹晃太郎 2
(1 京都府立医大皮膚科、2 同・保健予防医学)

17:40-18:20 総合討論

18:20-18:30 事務連絡

海老原 全

18:30- 閉会の辞

天谷雅行

19:00- 懇親会

演題抄録

① flaky tail マウスのフィラグリン変異の発見

工藤 純¹、佐々木貴史¹、河野 通良²、川崎 洋²、久保亮治²
1 慶大分子生物・先導研 GSP センター、2 慶大皮膚科

フィラグリンの減少が報告されている flaky tail マウスについてフィラグリン遺伝子変異の有無を調べた。6種のプライマーセットを用いて mFLG-shotgun を行い、4種のプライマーセットで同一の一塩基欠失を検出した。マウスの FLG 繰り返しユニットは 730~770bp で、繰り返し数は 17~19 にも及ぶと推定され、まだ全構造を決定するには至っていないが、この変異によりフレームシフトが生じ、458bp 下流でストップコドンが出現することから、flaky tail マウスで観察された低分子量のプロフィラグリンが生じた原因そのものであると考えている。

② フィラグリン欠損マウスの作製

久保亮治、天谷雅行
慶大皮膚科

フィラグリンの分子生物学的解析および新規アトピー性皮膚炎モデルマウス作成のため、フィラグリン欠損マウスの作製を行った。マウスフィラグリン遺伝子は、non-coding region である短い exon1、翻訳開始点を含む exon2、および12個の極めて相同性の高い繰り返し配列と終止コドンを含む exon3 からなっている。ターゲティングベクター (TV) 1は Exon2 に含まれる翻訳開始点から、exon3 の開始直後にあるインフレームの ATG までが Neo 耐性遺伝子と置き換わるようにデザインした。TV 2は、exon1 と exon2 を全て含む約 6 kb にわたる領域が Neo 耐性遺伝子と置き換わるようにデザインした。TV 1によりターゲットされた F1 ヘテロマウスが得られており、ホモマウス作成のために交配中である。また TV 2によりターゲットされた ES 細胞が得られており、現在インジェクション中である。

③バリア機能障害における表皮タイトジャンクションの異常の検討

古瀬幹夫、明石昌也

神戸大細胞生物

成体マウスにおいて表皮タイトジャンクションのバリア機能異常を評価する目的で、皮下注射して細胞間隙を拡散したトレーサーのタイトジャンクションへの到達を蛍光顕微鏡下で可視化しようとしているが、仔マウスと異なり、成体マウスでは角質層が薄い上に角質層のバックグラウンド蛍光が強いことが障害となっている。現在、電子顕微鏡レベルでの検出を試みている。また、表皮顆粒層タイトジャンクションの構成成分であるクロロディン1ノックアウトマウスの角質層の異常について走査電子顕微鏡による観察を行い、角質層最外層表面の微細形態に異常を認めた（カネボウ 菅原智子研究員との共同研究）。

④flaky tail マウスを用いた新規アトピー性皮膚炎マウスモデルの作製

川崎 洋、久保亮治、天谷雅行

慶大皮膚科

フィラグリン変異に基づく皮膚バリア機能異常に着目したアトピー性皮膚炎マウスモデルを作製するための至適条件検討を行った。flaky tail マウス、野生型マウスの背部に OVA を dibutyl phthalate と共に塗布したところ、双方とも OVA 特異的 IgE の上昇を認めた。

次にマウス耳翼に同試薬を隔日で塗布し組織学的検討を行ったところ、day18 では flaky tail マウスで表皮肥厚、真皮浅層に軽度の細胞浸潤の所見が認められたのに対し、野生型マウスではいずれも所見が軽度だった。一方、FITC をマウス耳翼に dibutyl phthalate と共に塗布したところ、急性期であっても慢性期であっても組織学的皮膚炎所見は野生型マウスと比べ flaky tail マウスで強く見られた。

⑤アトピー性皮膚炎モデルマウスの免疫学的解析

梶島健治、吉木竜太郎、坂部純一

産業医大皮膚科

①インボルクリンプロモータを用いた表皮特異的に1ユニットのフィラグリン遺伝子を発現するコンストラクトや1ユニットのフィラグリンとeGFP融合遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作製中である。

②ハプテン反復塗布によりTh1型からTh2型に免疫反応がシフトするが、そのプロセスにおける皮膚樹状細胞の機能変化やバリア破壊刺激（アセトン、テープストリッピングなど）下におけるランゲルハンス細胞の形態機能を評価中であり、一部 preliminary な結果を紹介する。

⑥マウスモデルにおける、皮膚バリア機能障害による喘息発症リスクについての検討

浅野浩一郎

慶大呼吸器内科

【目的】われわれの研究目的は、皮膚バリア機能障害が経皮的抗原感作の亢進を介して気管支喘息発症リスクを増加させるかどうかを、マウスモデルを用いて検討することである。

【方法】皮膚バリア機能障害のモデルとしては、テープあるいは脱毛クリームを用いた物理的傷害と、正常フィラグリン産生が低下している Flaky tail マウスを用いた。それぞれ、抗原（卵白アルブミン、OVA）をしみこませたパッチをマウス背部皮膚に貼付して感作した後、2%OVAエアロゾル吸入暴露を行った。【結果】特に皮膚バリア機能を障害しなくても、経皮感作、吸入暴露により気道好酸球数の増加と気道上皮の杯細胞化生をきたし、物理的な皮膚傷害を加えた群ではむしろ好酸球性気道炎症は減弱した。一方、Flaky tail マウスでは経皮感作後の血中OVA特異的IgEの増加は認めるにも関わらず好酸球性気道炎症はほとんど惹起されず、気道病変の評価は困難であった。【考察】現在の感作法（パッチ貼付）では経皮感作が容易に生じてしまうことから、皮膚バリア機能への影響がより少ない感作法を再検討する必要がある。一方、高度の皮膚傷害の存在は気道炎症をむしろ抑制したが、これはアトピー性皮膚炎増悪時に喘息症状が軽減する現象を反映している可能性が考えられ、興味深い。また、Flaky tail マウスでは感作が成立しているにも関わらず、なぜ吸入暴露後の好酸球性気道炎症を生じないのかについても現在検討中である。

⑦簡易同定法によるアトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子変異解析