

17:20-18:20 総合討論 (座長：天谷雅行)

18:20-18:25 事務連絡

海老原 全

18:25- 閉会の辞

天谷雅行

19:00- 懇親会

## 演題抄録

### ①フィラグリンと物質皮膚透過性に関する解析

川崎 洋<sup>1</sup>、久保亮治<sup>2</sup>、永尾圭介<sup>2</sup>、畑 毅<sup>1</sup>、天谷雅行<sup>1</sup>

<sup>1</sup>慶大皮膚科、<sup>2</sup>慶大総合医科学研究センター

皮膚バリア機能異常に起因するアトピー疾患マウスモデルを確立するため、フィラグリンノックアウト(KO)マウスを作製し、表現型の解析を行った。フィラグリン KO マウスにおける外から内への物質の皮膚透過性の変化を評価するために、カルセイン含有リポソームを経皮塗布し、共焦点レーザー顕微鏡で色素の透過性を観察した。また、刺激物質である croton oil をマウスの耳翼に塗布し、フィラグリン KO マウスと野生型マウス間の耳翼腫脹反応の違いを評価した。

### ②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<sup>1</sup>、吉木 竜太郎<sup>2</sup>、坂部 純一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>京都大皮膚科 <sup>2</sup>産業医大皮膚科

①アトピー性皮膚炎における filaggrin の発現は、mutaion の位置により予想される filaggrin 発現よりも著しく低下している。そこで profilaggrin 遺伝子の C 末の役割を解析するために幾つかのコンストラクトを作成した。ケラチノサイトに transfection を行い役割の同定を現在試みている。

② filaggrin 欠損が認められることが知られている flaky tail マウスにダニ抗原を塗布することにより、皮膚炎を惹起することを見出したので、本モデルにおける痒みと免疫学的解析の結果を報告する。また、filaggrin の transgenic マウスが作製されたが、現在バッククロスの途中である。

### ③経皮感作とアレルギー性気道炎症の遷延

樹神元博、加川志津子、友松克允、田中希宇人、小熊剛、浅野浩一郎

慶大呼吸器内科

【目的】抗原感作経路の違い、特に皮膚を介した感作が気道炎症の持続にどのような影響を及ぼすかをマウスモデルで検討した。【方法】C57BL/6 マウスを用い、卵白アルブミン (OVA) を腹腔内投与 (全身感作) あるいは背部皮膚へのパッチ貼付投与 (経皮感作) した後に OVA エアロゾルで吸入暴露し、1-7日目の気道病変を評価した。【結果】OVA 暴露 1 日後の好酸球性炎症は全身感作モデル>経皮感作モデルであったが、全身感作モデルでの炎症が速やかに消褪するのに対して経皮感作モデルでは遷延傾向が認められ、7 日目には経皮感作モデル>全身感作モデルとなった。気管支肺胞洗浄液中 IL-13 濃度も同様の傾向が認められた。【結論】経皮感作により Th2 型の好酸球性気道炎症が遷延・難治化する可能性が示唆された。

#### ④ランゲルハンス細胞と皮膚タイトジャンクションバリアの相互作用の解析

久保亮治 1, 永尾圭介 1, 横内麻里子 2, 吉田和恵 2, 天谷雅行 1

1 慶大総合医科学研究センター、2 慶大皮膚科

哺乳類の表皮は重層扁平上皮であり、外側から順に、角質層、顆粒層、有棘層、基底層という4層からなる。ここでは顆粒細胞層を2つに分けて、一番外側の1層を外顆粒層、二層目以降を内顆粒層と呼ぶことにする。哺乳類の皮膚は二重のバリアを備えている。角質細胞とその隙間を埋める角質細胞間脂質からなる角質層バリアと、内顆粒層の一番外側を構成する顆粒細胞とその細胞間隙をシールするタイトジャンクションからなる内顆粒層バリアである。一方、それらのバリアの下では、抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞が、表皮内をくまなく覆うネットワークを形成している。今回我々は、活性化したランゲルハンス細胞がその樹状突起をタイトジャンクションとドッキングさせ、内顆粒層バリアの外側に存在する抗原を取り込むことを示した。今後、本現象がアレルギーの感作・成立にどのように関わるのかについて検討を進める予定である。

#### ⑤トリセルラータイトジャンクションの解析

古瀬幹夫

神戸大医細胞生物

上皮細胞シートにおいて、3つの上皮細胞の角が集まる部位では、タイトジャンクションが特殊な構造「トリセルラータイトジャンクション」(tTJ)を形成することによって細胞間隙の漏れを制限している。tTJの構成分子として唯一トリセルリンが知られていた。私たち

は tTJ を構成する新規膜タンパク質 LSR を同定した。LSR がトリセルリンを tTJ へ局在化させることを見出した。LSR は tTJ の位置決めを行っていると考えられる。LSR のノックアウトマウスは胎生 12 日で致死であることが報告されており、LSR の皮膚のバリア機能における役割を明らかにするため、現在コンディショナルノックアウトマウスを作成している。

## ⑥皮膚バリア機能蛋白遺伝子の解析

工藤 純<sup>1</sup>、渋谷和憲<sup>2</sup>、宮本憲一<sup>2</sup>  
1 慶大生命情報学センター、2 慶大分子生物

ゲノム配列データベースで未完成のまま放置されてきたマウス C57BL/6 株のフィラグリン遺伝子 exon3 の Flg リピート領域の塩基配列を決定した。BAC クローン RP23-227A12 からサブクローニングした exon3 の Flg リピートを含む約 14kb のサブクローンについて transposon Tn5 を利用して平均 6.3 リードのカバー率で 13,964bp の連続配列を決定した。制限酵素による切断片長は決定した塩基配列から予想されるものと矛盾しなかった。最終的に *Flg*<sup>C57</sup> 遺伝子は約 750bp を単位とした 16 単位の完全な Flg リピートを含んでいたが、exon3 の全長は、14,318bp となり、データベースの配列よりも 7bp 長くなった。また、フィラグリン-2 遺伝子の変異解析も試みた。

## ⑦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<sup>1</sup>、定平知江子<sup>2</sup>、川崎洋<sup>1</sup>、海老原全<sup>1</sup>、工藤 純<sup>3</sup>、天谷雅行<sup>1</sup>  
1 慶大皮膚科、2 国立成育医療センター皮膚科、3 慶大生命情報学センター

慶大皮膚科外来を受診されたアトピー性皮膚炎患者における、フィラグリン遺伝子の遺伝子型 (A, B, C) および、アジア型変異 (S2889X, S3296X, S2554X, 3321delA)、ヨーロッパ型変異 (R501X, 2284del4, 3338delG) について、PCR と制限酵素処理を組み合わせた簡易同定法、Gene Scan による 1 塩基欠失同定法を用いて解析を行った。これまでに行ってきた 198 名のアトピー性皮膚炎患者 DNA の解析結果を報告する。

## ⑧アトピー性皮膚炎における皮膚バリア機能の臨床的解析

海老原 全 1、定平知江子 2、川崎 洋 1、河野通良 1、天谷雅行 1

1 慶大皮膚科、2 国立成育医療センター皮膚科

当科通院中の日本人アトピー性皮膚炎患者 186 名のうち、15 例にフィラグリン遺伝子変異、1 例にロリクリン遺伝子変異が認められた。

フィラグリン遺伝子変異を認めた症例は、男性 8 例、女性 7 例で、軽症が 4 例、中等症が 8 例、重症が 3 例であった。発症した時期は、乳児期が 1 例、幼少期が 9 例、9 歳が 1 例、13 歳が 2 例、18 歳が 1 例、24 歳が 1 例であった。11 例は発症から現在まで皮疹が続いており、4 例には一旦軽快がみられた。11 例にアレルギー性疾患の家族歴があり、9 例は既往あるいは合併症としてアレルギー性鼻炎や気管支喘息を有していた。血清 IgE 値は 880~11666IU/ml であり、IgE-RAST でスコア 4 以上の症例は、ダニとハウスダストが 14 例中 11 例、スギが 11 例中 6 例、ネコが 11 例中 3 例、イヌが 11 例中 2 例、ピチロスポルムが 13 例中 6 例、カンジダが 10 例中 2 例であった。

ロリクリン遺伝子変異例は、30 歳男性で重症例であった。アレルギー性鼻炎と気管支喘息の既往があり、アトピー性皮膚炎の発症は 3 歳からであった。血清 IgE 値は 679IU/ml、IgE-RAST はダニがスコア 5、ハウスダストがスコア 4 で、ほかは陰性であった。

フィラグリン、ロリクリン遺伝子変異の有無による臨床所見に差異は認めなかった。

### ⑨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

加藤則人 1、若森健 1、2、益田浩司 1、小笹晃太郎 3

1 京都府立医大皮膚科、2 京都第一赤十字病院皮膚科、3 放射線影響研究所疫学部

皮膚の乾燥を防ぐ適切な生活習慣と保湿スキンケアを指導して実践を促すことで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して、京都府山間部の一小・中学校の全児童・生徒とその保護者に、2 年前から皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣に関する教育介入を行っている。今年度のアトピー性皮膚炎の有病率は 8.5%、乾燥皮膚のみを呈する小児は 1.5%であり、昨年度のアトピー性皮膚炎の有病率 11.6%、乾燥皮膚のみを呈する小児の割合 4.6%と比較して、大きく低下していた。今年度と昨年度までの 10 年間では、気候や地域の医療情勢などには大きな変化はないことから、教育介入によってアトピー性皮膚炎や乾燥皮膚の割合が減少してきていることが示唆された。

## V. 平成 21 年度構成員名簿

## 班員構成

区分	氏名	所属	職名
研究代表者	天谷雅行	慶應義塾大学医学部皮膚科学	教授
研究分担者	古瀬幹夫 工藤 純 加藤則人 椛島健治 浅野浩一郎 海老原 全 久保亮治	神戸大学大学院医学研究科 生理学・細胞生物学 講座 細胞生物学分野 慶應義塾大学医学部生命情報学センター*1 京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学 京都大学大学院医学研究科皮膚科学 慶應義塾大学医学部呼吸器内科学 慶應義塾大学医学部皮膚科学 慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター	教授 教授*1 教授*2 准教授 准教授 専任講師 特別研究 講師
事務局	岡嶋万里子	慶應義塾大学医学部皮膚科学 〒160-8582 新宿区信濃町 35 TEL: 03-5363-3823 FAX: 03-5363-3596 E-mail: nagatomi@sc.itc.keio.ac.jp	秘書
経理事務連絡 担当責任者	光永明弘	慶應義塾大学医学部 信濃町研究支援センター 〒160-8582 新宿区信濃町 35 TEL: 03-5363-3879 FAX: 03-5363-3507 E-mail: ras-shinanomachi-kourou@adst.keio.ac.jp	

\*1 平成 21 年 6 月 1 日 所属先・職位変更

\* 2 平成 21 年 8 月 1 日 職位変更

