

201023034A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

皮膚バリア障害によるアレルギーマーチ発症機序解明
に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成23（2011）年 3月

厚生労働科学研究費補助金

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トピー性疾患病態解明
に関する研究

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成23（2011）年 3月

目 次

I. 平成22年度総括研究報告	1
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 教授 研究代表者 天谷 雅行	
II. 平成22年度分担研究報告	
フィラグリンノックアウトマウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウスの作製	11
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 教授 天谷 雅行	
アトピー性皮膚炎モデルマウスの免疫学的解析に関する研究	16
京都大学大学院医学研究科 皮膚科学 准教授 椛島 健治	
皮膚表皮特異的遺伝子と角層バリア制御機構	19
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 メディカル・トップ・トラック (MTT) プログラム 特任講師 松井 毅	
皮膚バリア機能におけるタイトジャンクションの役割の解明	21
神戸大学大学院医学研究科 細胞生物学分野 教授 古瀬 幹夫	
皮膚タイトジャンクションバリアとランゲルハンス細胞の三次元可視化に関する研究	24
慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター 特別研究講師 久保 亮治	
自然発症皮膚炎モデルマウスの解析	28
慶應義塾大学医学部皮膚科学 専任講師 永尾 圭介	
皮膚バリア機能とダニ抗原誘発喘息	31
慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 准教授 浅野 浩一郎	
皮膚バリア機構と細菌感染	34
広島大学大学院医歯薬学総合研究科細菌学 教授 菅井 基行	

皮膚バリア機能関連蛋白の遺伝子解析.....	40
慶應義塾大学医学部 遺伝子医学研究室 教授 工藤 純	
日本人AD患者におけるFLG変異解析.....	43
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 専任講師 海老原 全	
皮膚のバリア機能を守る生活習慣とアトピー疾患の関係について.....	46
京都府立医科大学大学院医学研究科 皮膚科学 教授 加藤 則人	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	51
IV. 平成22年度班会議プログラム.....	57
V. 平成22年度構成員名簿.....	73

I . 平成 22 年度総括研究報告

皮膚バリア障害によるアレルギーマーチ発症機序解明に関する研究

研究代表者 天谷 雅行 慶應義塾大学医学部皮膚科学 教授

研究要旨

本研究では、皮膚バリア機能障害の観点から、アレルギーマーチを起こすアトピー性疾患の発症に関する病態解明を行い、皮膚バリア機能補正によるアレルギー疾患発症抑制・予防への分子基盤を確立する。フィラグリン欠損に伴う角層バリア機能障害に起因するアレルギーマーチ発症機序を解明するとともに、フィラグリン以外のアトピー性疾患発症新規因子の同定を試みる。本年度は、バリア機能障害によるアトピー性疾患病態解明に関する研究班における成果を継続発展させるとともに、アレルギーマーチに関与する新しい研究テーマの基盤を確立する。

正常皮膚バリア機構の解明では、タイトジャンクション (TJ) の新規構成蛋白として、細胞外に免疫グロブリンドメインを一つもつ膜タンパク質 Lipolysis stimulated lipoprotein receptor (LSR) を同定した。ヒト皮膚において、TJ ネットワークを可視化することに成功し、ヒトにおいてもマウス同様、活性化したランゲルハンス細胞は樹状突起を TJ とドッキングさせていることが観察され、TJ の外側にある外来抗原を捕捉することが考えられた。フィラグリン欠損マウスでは、カルセイン封入リポソームの角層透過性が亢進しており、刺激性接触皮膚炎反応が亢進し、OVA 反復塗布により血清中 OVA 特異的 IgG1, IgE 値の有意な上昇を認め、角層機能障害によるアトピー性皮膚炎発症機序の解明に有用なモデルマウスが作出された。TACE (TNF α converting enzyme, ADAM17) を、表皮特異的に欠損させた conditional KO (cKO) マウスは生後 3 週目より明らかなアレルゲンの非存在下にて顕著な皮膚炎を生じることを明らかにし、かゆみおよび皮膚炎発症の内因性機序を解明する重要なツールを確立した。フィラグリン以外のアトピー性疾患発症新規関連候補因子としてプロテアーゼ G (仮称) を同定し、プロテアーゼ G はプロフィラグリン分解に関わり、プロテアーゼ G 欠損無毛マウスは、生後 3~4 週目において乾燥肌様表皮を呈することを示した。アトピー性皮膚炎を含む様々の臨床検体から分離された黄色ブドウ球菌を用いて、皮膚感染する黄色ブドウ球菌の特定のゲノタイプ、病原因子について検討を加えた。

本研究の成果により、アレルギーマーチを起こすアトピー性疾患の発症機序において、皮膚バリア障害による持続的経皮免疫が根本的な要因であることを示す確固たる免疫学的基盤が確立されつつある。

研究分担者

- 古瀬幹夫 神戸大学大学院医学研究科
細胞生物分野教授
- 菅井基行 広島大学大学院医歯薬学
総合研究科細菌学教授
- 工藤 純 慶應義塾大学医学部
遺伝子医学研究室教授
- 加藤則人 京都府立医科大学大学院医学研究
科皮膚科学教授
- 梶島健治 京都大学大学院医学研究科
皮膚科学准教授
- 浅野浩一郎 慶應義塾大学医学部
呼吸器内科学准教授
- 松井毅 東京医科歯科大学難治疾患研究所
MTTプログラム特任講師
- 海老原全 慶應義塾大学医学部皮膚科学
准教授
- 久保亮治 慶應義塾大学医学部総合医科学研
究センター特別研究講師
- 永尾圭介 慶應義塾大学医学部皮膚科
専任講師

A. 研究目的

本研究では、皮膚バリア機能障害の観点から、アレルギーマーチを起こすアトピー性疾患の発症に関する病態解明を行い、皮膚バリア機能補正によるアレルギー疾患発症抑制・予防への分子基盤を確立する。フィラグリン欠損に伴う角層バリア機能障害に起因するアレルギーマーチ発症機序を解明するとともに、フィラグリン以外のアトピー性疾患発症新規因子の同定を試みる。本年度は、バリア機能障害によるアトピー性疾患病態解明に関する研究班における成果を継続発展させるとともに、アレルギーマーチに関与する新しい研究テーマの基盤を確立する。

正常皮膚バリア機構の解明として、タイトジャンクションの新しい構成蛋白の分離・同定を試みるとともに、ヒトにおける皮膚タイトジャンクションの可視化とランゲルハンス細胞との協調関係を明らかにする。アトピー性疾患発症機序の解明として、フィラグリン欠損マウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウス、経皮感作を介した喘息モデルマウスの確立を目指す。フィラグリン以外のアトピー性疾患発症新規関連因子として、SPF下で自然発症する皮膚炎モデルマウスの開発、フィラグリン分解異常に関与するプロ

テアーゼの同定と角層機能の解析を行う。さらに、アトピー性皮膚炎の患部皮膚からしばしば黄色ブドウ球菌が検出されるが、臨床検体から分離された黄色ブドウ球菌を用いて、そのゲノタイプと病原性との関連性を検討し、皮膚感染する黄色ブドウ球菌の特定のゲノタイプ、病原因子について検討する。ヒトにおける解析では、日本人特有の遺伝子変異を効率よく検出できる簡便法を構築し、日本人データの蓄積、バリア機能低下とアレルギー性疾患発症の疫学的解析を継続する。

B. 研究方法

1) タイトジャンクション (TJ) の新規構成膜タンパク質の同定

細胞内局在を指標とした発現クローニング法により、トリセルラータイトジャンクション (tTJ) に局在する新規タンパク質を同定し、機能解析を行う。

2) ヒト皮膚TJとランゲルハンス細胞 (LC) の三次元可視化

ヒト皮膚を用いて、TJバリアとLCとの立体位置関係について検討する。

3) フィラグリンノックアウト (KO) マウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウスの解析

カルセイン封入りポソーム(蛍光物質)をマウスの皮膚に塗布し、フィラグリンKOマウスと野生型マウス間での皮膚透過性の差を共焦点顕微鏡により組織学的に検討するとともに、ハプテン誘導性接触過敏反応、蛋白抗原塗布後の液性免疫応答に関する評価を行う。皮膚炎発症に関与する樹状細胞の同定と、TSLP-TSLP-receptorシグナルの重要性の検討を行う。

4) 経皮的抗原感作による喘息誘導モデルの開発

フィラグリンKOマウスの両耳介にダニ抽出抗原軟膏を週2回3週間塗布した後、同抗原溶液あるいは溶媒 (PBS) の点鼻吸入を3日間隔で2回行う。曝露終了後4日目に気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、BAL液中の炎症細胞数およびその分画を評価し、気道炎症の有無を検討する。

5) アトピー性疾患発症新規関連因子の同定

日本人アトピー性皮膚炎患者において、フィラグリン遺伝子に変異が認められるのは、我々の検討では12.6%に過ぎず、フィラグ

リン以外の関連因子の存在が示唆される。フィラグリン分解に関与するプロテアーゼが原因遺伝子となっている可能性を検討する。同プロテアーゼの欠損マウスを用いて、プロフィラグリン分解異常が及ぼす皮膚表皮の性状に関して詳細に検討する。

6) 自然発症皮膚炎モデルマウスの開発

Shedding convertase の代表的分子であるTACE (TNF α converting enzyme, ADAM17) を、表皮特異的に欠損させたconditional KO(cKO)マウスを作製する。得られたマウスの表現形を皮疹・搔爬行動の観察・血中サイトカイン・病理組織にて評価する。

7) アトピー性皮膚炎の病態形成における黄色ブドウ球菌感染の役割

臨床検体から分離された黄色ブドウ球菌を用いて、そのゲノタイプと病原性との関連性を検討し、皮膚感染する黄色ブドウ球菌のゲノタイプを明らかにするとともに、皮膚感染する黄色ブドウ球菌の病原因子について検討する。

8) アトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子解析

慶應義塾大学医学部で収集したAD 214人、コントロール64人に対し、FLG変異解析を行う。

9) 生活習慣と保湿スキンケア教育介入によるアトピーマーチ予防に関する疫学的検討

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科検診を行うとともに、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を行い、アトピー性皮膚炎、乾燥皮膚、アレルギー性鼻炎、喘息を持つ児童・生徒の頻度の推移を検討する。

C. 結果

1) タイトジャンクション (TJ) の新規構成膜タンパク質の同定

tTJの新規構成分子として、細胞外に免疫グロブリンドメインを一つもつ膜タンパク質Lipolysis stimulated lipoprotein receptor (LSR)を同定し、これをAngulinと名付けた。Angulinは上皮組織においてtTJに局在し、RNAi法によりAngulinの発現を抑制すると、トリセルリンがトリセルラーコンタクトに濃縮しなくなった。一方、トリセルリンの発現を抑えても、Angulinは

トリセルラーコンタクトに局在していた。マウス表皮において、Angulinは顆粒層のtTJおよびその一層下のTJ形成が開始されつつある領域に発現が認められた。AngulinはtTJ形成に重要な役割を持つと考えられる。

2) ヒト皮膚TJとランゲルハンス細胞 (LC) の三次元可視化

ヒト皮膚において、TJネットワークを可視化することに成功した。マウスと比べると、ヒト表皮顆粒層の細胞がお互いに重なり合い、より複雑な構造を呈していた。ヒト表皮は有棘層が厚く、LCは有棘層に幅広く分布していた。ヒトにおいても、活性化LCは、樹状突起をTJとドッキングさせていた。アトピー性皮膚炎病変部皮膚においては、TJ局在蛋白が細胞接着部位に局在する細胞層が多層化していたが、TJバリアとして機能しているのは最上層の1層のみであった。

3) フィラグリンノックアウト (KO) マウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウスの解析

カルセイン封入りポソームの塗布3時間後に、野生型マウスでは角層表面にのみ色素が局限していたのに対し、フィラグリンKOマウスでは角層全層に色素が浸透していた。刺激性接触皮膚炎反応、ハプテン誘導性接触過敏反応のいずれの系でも、フィラグリンKOマウスは、野生型マウスに比べ、有意に耳翼の腫脹反応が亢進し、OVA反復塗布により血清中OVA特異的IgG1, IgE値の有意な上昇を認めた。

ランゲルハンス細胞のみにおいてTSLP receptorを欠損させると、OVA誘導皮膚炎が野生型マウスに比して減弱しており、ランゲルハンス細胞のTSLPを介した経路の重要性が確認された。

4) 経皮的抗原感作による喘息誘導モデルの開発

BAL液中の総細胞数と好酸球数はワセリン軟膏-PBS点鼻群、ワセリン軟膏-ダニ点鼻群、ダニ軟膏-ダニ点鼻群の順に増加していた。フィラグリンKOマウスでは野生型に比してダニ軟膏-ダニ点鼻群での好酸球数が多い傾向にあった。

5) アトピー性疾患発症新規関連因子の同定

プロテアーゼ G (仮称) は、プロフィラグリンのリンカー配列を *in vitro* で切断した。プロテアーゼ G 欠損無毛マウスは、

生後 3~4 週目において乾燥肌様表皮を呈した。経皮水分蒸散量に変化は認めないが、角質水分量は有意に減少しており、透過電子顕微鏡にて、電子密度のより濃い角質層が有意に増加していた。更に、プロフィラグリンの分解異常による異常なプロフィラグリンが蓄積していた。

6) 自然発症皮膚炎モデルマウスの開発

TACE cKOマウスは生後 3 週目より明らかなアレルゲンの非存在下にて顕著な皮膚炎を生じた。マウスには激しい搔破行動を認め、週齢を重ねるに連れて重症化した。高 IgE血症を呈し、血中 IL-17、G-CSF の高値、真皮肥満細胞の増加を認め、アレルギー性皮膚炎の所見を有していた。

7) アトピー性皮膚炎の病態形成における黄色ブドウ球菌感染の役割

日本全国から収集した黄色ブドウ球菌の代表株として 200 株を選別し、CGH 解析によりクラスタリングを行った。その結果、アトピー性皮膚炎患者から分離された菌は市中感染菌群に由来し、クラスターを形成することが明らかとなった。皮膚感染を起こした黄色ブドウ球菌に共通して認められる約 200 kDa のタンパク質 Skin Infection Related Protein (Skip) を同定した。Skip 保有株は極めて強いバイオフィルム形成能を示した。

8) アトピー性皮膚炎患者のフィラグリン遺伝子解析

日本人集団で見られる 8 種のフィラグリン変異解析の結果、アトピー性皮膚炎患者 27/214 (12.6%) 及び正常人 6/64 (9.4%) で、フィラグリン変異が同定された。

9) 生活習慣と保湿スキンケア教育介入によるアトピーマーチ予防に関する疫学的検討

今年度の小中学生のアトピー性皮膚炎の有病率は 13%、乾燥皮膚のみを呈する小児は 6% であり、昨年度と比較して上昇していた。健康皮膚、乾燥皮膚の小児において、血清総 IgE 値やダニ、スギ特異 IgE 値には例年と比較して、低下している傾向が見られた。

D. 考察

本年度は、皮膚 TJ バリアの分子機構の解明、ヒト皮膚における TJ の可視化、フィラグリン以外のアトピー性疾患発症新規関連因子の同定において大きな進展があり、ブ

ドウ球菌の皮膚炎発症における役割解析における準備を進めることができた。

tTJ の新規構成分子として Angulin を世界で初めて同定した。Angulin はトリセルリンを tTJ に集積させることによって tTJ 形成と上皮バリア機能に寄与すると考えられた。皮膚ランゲルハンス細胞が、角化細胞と TJ を形成しながら樹状突起を伸ばす際に重要な役割をしていることが予想される。Angulin 機能異常によるバリア機能障害の可能性も示唆される。TJ バリアと LC との相互作用は、マウス皮膚のみでなくヒト皮膚においても保存されていることが明らかとなった。今後は、アトピー性皮膚炎病変部皮膚と、正常人皮膚、アトピー性皮膚炎患者健常部皮膚との相違点をさらに検討し、アトピー性皮膚炎発症時の病態形成における LC の関与の可能性を探る。

TACE cKO マウスは SPF 下において皮膚炎を自然発症し、搔破行動、高 IgE 血症の出現が認められ、内因性アトピー性皮膚炎様の表現型を呈している。バリアおよび免疫学的観点から、かゆみおよび皮膚炎発症の内因性機序を解明する重要なモデルとなる。アトピー性疾患発症新規関連因子として、プロテアーゼ G が、プロフィラグリン分解に関わる事を明らかにした。今後、アトピー性皮膚炎患者ゲノムにおけるヒトプロテアーゼ G の遺伝子解析を行い、乾燥肌やアトピー性皮膚炎発症機序に新たな展開がうまれることが期待される。

アトピー性皮膚炎患者皮膚に定着する黄色ブドウ球菌は特定のゲノタイプをもつことが明らかにされた。現在、特徴的な遺伝子セットを同定するために、代表的な株について全ゲノム配列決定が進行中である。同定された菌株を用いて、フィラグリン存在、非存在下における表皮付着性を検討することにより、黄色ブドウ球菌付着は皮膚炎発症の原因なのか、結果なのかを初めて明らかにする事が期待される。

E. 結論

本研究の成果により、アレルギーマーチを起こすアトピー性疾患の発症機序において、皮膚バリア障害による持続的経皮免疫が根本的な要因であることを示す確固たる免疫学的基盤が確立されつつある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

<英語論文>

1. Moniaga CS, Egawa G, Kawasaki H, Hara-Chikuma M, Honda T, Tanizaki H, Nakajima S, Otsuka A, Matsuoka H, Kubo A, Sakabe J, Tokura Y, Miyachi Y, Amagai M, Kabashima K: Flaky tail mouse denotes human atopic dermatitis in the steady state and by topical application with *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. **Am J Pathol**, 176 (5): 2385-2393, 2010.
2. Sugita K, Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tanizaki H, Tokura Y: FTY720 regulates bone marrow egress of eosinophils and modulates late-phase skin reaction in mice. **Am J Pathol**, 177 (4): 1881-1887, 2010.
3. Tanizaki H, Egawa G, Inaba K, Honda T, Nakajima S, Moniaga CS, Otsuka A, Ishizaki T, Tomura M, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Okada T, Kabashima K: Rho-mDial pathway is required for adhesion, migration, and T-cell stimulation in dendritic cells. **Blood**, 116 (26): 5875-5884, 2010.
4. Honda T, Tokura Y, Miyachi Y, Kabashima K: Prostanoid receptors as possible targets for anti-allergic drugs: recent advances in prostanoids on allergy and immunology. **Curr Drug Targets**, 11 (12): 1605-1613, 2010.
5. Iyori K, Hisatsune J, Kawakami T, Shibata S, Murayama N, Ide K, Nagata M, Fukata T, Iwasaki T, Oshima K, Hattori M, Sugai M, Nishifuji K: Identification of a novel *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin gene and its prevalence in isolates from canines with pyoderma and healthy dogs. **FEMS Microbiol Lett**, 312 (2): 169-175, 2010.
6. Kodama M, Asano K, Oguma T, Kagawa S, Tomomatsu K, Wakaki M, Takihara T, Ueda S, Ohmori N, Ogura H, Miyata J, Tanaka K, Kamiishi N, Fukunaga K, Sayama K, Ikeda E, Miyasho T, Ishizaka A: Strain-specific phenotypes of airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness induced by epicutaneous allergen sensitization in BALB/c and C57BL/6 mice. **Int Arch Allergy Immunol**, 152 Suppl 1: 67-74, 2010.
7. Nakai N, Kishida T, Hartmann G, Katoh N, Imanishi J, Kishimoto S, Mazda O: Mitf silencing cooperates with IL-12 gene transfer to inhibit melanoma in mice. **Int Immunopharmacol**, 10 (4): 540-545, 2010.
8. Honda T, Nakajima S, Egawa G, Ogasawara K, Malissen B, Miyachi Y, Kabashima K: Compensatory role of Langerhans cells and langerin-positive dermal dendritic cells in the sensitization phase of murine contact hypersensitivity. **J Allergy Clin Immunol**, 125 (5): 1154-1156 e1152, 2010.
9. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Kishimoto S: Platelet activation in patients with psoriasis: increased plasma levels of platelet-derived microparticles and soluble P-selectin. **J Am Acad Dermatol**, 62 (4): 621-626, 2010.
10. Matsuo M, Kato F, Oogai Y, Kawai T, Sugai M, Komatsuzawa H: Distinct two-component systems in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* can change the susceptibility to antimicrobial agents. **J Antimicrob Chemother**, 65 (7): 1536-1537, 2010.
11. Tomura M, Honda T, Tanizaki H, Otsuka A, Egawa G, Tokura Y, Waldmann H, Hori S, Cyster JG, Watanabe T, Miyachi Y, Kanagawa O, Kabashima K: Activated regulatory T cells are the major T cell type emigrating from the skin during a cutaneous immune response in mice. **J Clin Invest**, 120 (3): 883-893, 2010.
12. Honda T, Otsuka A, Tanizaki H, Minegaki Y, Nagao K, Waldmann H, Tomura M, Hori S, Miyachi Y, Kabashima K: Enhanced murine contact hypersensitivity by depletion of endogenous regulatory T cells in the sensitization phase. **J Dermatol Sci**, 61 (2): 144-147, 2010.
13. Hattori K, Nishikawa M, Watcharanurak K, Ikoma A, Kabashima K, Toyota H, Takahashi Y, Takahashi R, Watanabe Y, Takakura Y: Sustained exogenous expression of therapeutic levels of IFN-gamma ameliorates atopic dermatitis in NC/Nga mice via Th1 polarization. **J Immunol**, 184 (5): 2729-2735, 2010.
14. Nakajima S, Honda T, Sakata D, Egawa G, Tanizaki H, Otsuka A, Moniaga CS, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K: Prostaglandin I2-IP signaling promotes Th1 differentiation in a mouse model of contact hypersensitivity. **J Immunol**, 184 (10): 5595-5603, 2010.
15. Yoshiki R, Kabashima K, Sakabe J, Sugita K, Bito T, Nakamura M, Malissen B, Tokura Y: The mandatory role of IL-10-producing and OX40 ligand-expressing mature Langerhans cells in local UVB-induced immunosuppression. **J Immunol**, 184 (10): 5670-5677, 2010.
16. Pilsczek FH, Salina D, Poon KK, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, Robbins SM, Green FH, Surette MG, Sugai M, Bowden MG, Hussain M, Zhang K, Kubes P: A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap

- formation in response to *Staphylococcus aureus*. **J Immunol**, 185 (12): 7413-7425, 2010.
17. Kirschner N, Haftek M, Niessen CM, Behne MJ, Furuse M, Moll I, Brandner JM: CD44 Regulates Tight-Junction Assembly and Barrier Function. **J Invest Dermatol**: Epub ahead of print, 2010.
 18. Franke GC, Bockenholt A, Sugai M, Rohde H, Aepfelbacher M: Epidemiology, variable genetic organization and regulation of the EDIN-B toxin in *Staphylococcus aureus* from bacteraemic patients. **Microbiology**, 156 (Pt 3): 860-872, 2010.
 19. Nakai N, Hartmann G, Kishimoto S, Katoh N: Dendritic cell vaccination in human melanoma: relationships between clinical effects and vaccine parameters. **Pigment Cell Melanoma Res**, 23 (5): 607-619, 2010.
 20. Muto S, Hata M, Taniguchi J, Tsuruoka S, Moriwaki K, Saitou M, Furuse K, Sasaki H, Fujimura A, Imai M, Kusano E, Tsukita S, Furuse M: Claudin-2-deficient mice are defective in the leaky and cation-selective paracellular permeability properties of renal proximal tubules. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 107 (17): 8011-8016, 2010.
 21. Honda T, Miyachi Y, Kabashima K: The role of regulatory T cells in contact hypersensitivity. **Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov**, 4 (2): 85-89, 2010.
 22. Suzuki Y, Kodama M, Asano K: Skin barrier-related molecules and pathophysiology of asthma. **Allergol Int**, 60 (1): 11-15, 2011.
 23. Kawasaki H, Kubo A, Sasaki T, Amagai M: Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis. **Curr Probl Dermatol**, 41: 35-46, 2011.
 24. Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, Tanahashi S, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, Kudoh J, Amagai M: SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. **EMBO Molecular Medicine**: in press, 2011.
 25. Morita K, Miyachi Y, Furuse M: Tight junctions in epidermis: from barrier to keratinization. **Eur J Dermatol**: 2011.
 26. Kato F, Kadomoto N, Iwamoto Y, Bunai K, Komatsuzawa H, Sugai M: Regulatory Mechanism for Exfoliative Toxin Production in *Staphylococcus aureus*. **Infect Immun**, 79 (4): 1660-1670, 2011.
 27. Amagai M, Matsushima K: Overview on autoimmunity and autoinflammation. **Inflammation and Regeneration**, 31 (1): 50-51, 2011.
 28. Mizumachi E, Kato F, Hisatsune J, Tsuruda K, Uehara Y, Seo H, Sugai M: Clonal distribution of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* on handles of handheld shopping baskets in supermarkets. **J Appl Microbiol**, 110 (2): 562-567, 2011.
 29. Masuda S, Oda Y, Sasaki H, Ikenouchi J, Higashi T, Akashi M, Nishi E, Furuse M: LSR defines cell corners for tricellular tight junction formation in epithelial cells. **J Cell Sci**, 124 (Pt 4): 548-555, 2011.
 30. Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, Amagai M, Tanaka T, Matsunaga K, Muto M, Morita E, Akiyama M, Soma Y, Terui T, Manabe M: Prevalence of dermatological disorders in Japan: A nationwide, cross-sectional, seasonal, multicenter, hospital-based study. **J Dermatol**, 38: 353-363, 2011.
 31. Iyori K, Futagawa-Saito K, Hisatsune J, Yamamoto M, Sekiguchi M, Ide K, Son WG, Olivry T, Sugai M, Fukuyasu T, Iwasaki T, Nishifuji K: *Staphylococcus pseudintermedius* exfoliative toxin EXI selectively digests canine desmoglein 1 and causes subcorneal clefts in canine epidermis. **Vet Dermatol**: 2011.
 32. Yamamoto M, Fujimoto H, Shimizu W, Kato F, Hisatsune J, Ito Y, Minami T, Sugai M: Identification and antimicrobial drug susceptibility of clinical *Staphylococcus* spp. isolates from canine superficial pyoderma at a primary veterinary hospital. **Jpn J Vet Dermatol**: in press.
 33. Masuda K, Tashima S, Katoh N: Anaphylaxis to abalone that was diagnosed by prick test of abalone extracts and immunoblotting for serum immunoglobulin E. **Int J Dermatol**: in press.
- <日本語論文>
1. 加藤則人: アトピー性皮膚炎 外用治療の実際 アトピー性皮膚炎に対するタクロリムス外用療法. **Allergia Trends**, 12 (1): 22-23, 2010.
 2. 久保亮治, 天谷雅行: 皮膚バリア研究の新展開. **FRAGRANCE JOURNAL**, 38 (5): 14-18, 2010.
 3. 浅野浩一郎: 重症喘息の病型. **IgE practice in asthma**, 4: 27-29, 2010.
 4. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の薬物療法. 特集 アレルギー疾患の治療. **Medicament News**, 2014: 9-10, 2010.
 5. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の根本治療. **Topics in Atopy**, 9 (4): 26-30, 2010.
 6. 浅野浩一郎: 遺伝素因. **アレルギー・免疫**, 17 (12): 1996-2002, 2010.
 7. 加藤則人: 私の治療 アトピー性皮膚炎に

対するタクロリムス外用療法 使い方のポイント. **アレルギーの臨床**, 30 (11): 1017-1020, 2010.

8. 益田浩司, 加藤則人: アレルギー性皮膚疾患-最近の話題. **京府医大誌** 119: 877-883, 2010.
9. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の内服療法. **医薬ジャーナル**, 46 (3): 986-989, 2010.
10. 浅野浩一郎: 喘息に対する分子標的治療. **呼吸と循環**, 58 (10): 987-993, 2010.
11. 益田浩司, 加藤則人: 小児皮膚疾患 汗の異常. **小児科**, 51 (5): 676-677, 2010.
12. 久保亮治, 天谷雅行: ランゲルハンス細胞による外来抗原捕捉機構. **感染・炎症・免疫**, 40: 267-270, 2010.
13. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の病態と治療-最近の話題. **日本皮膚科学会認定専門医研修講習会テキスト(中部支部企画) 日本皮膚科学会刊**: 1-8, 2010.
14. 久保亮治: 特別講演: 未来皮膚科学: Molecular Barriology of the Skin. **日本皮膚科学会雑誌・臨時増刊号**, 120 (13): 2521-2523, 2010.
15. 浅野浩一郎: 重症喘息の病型と治療法. **臨床免疫・アレルギー科**, 53 (2): 174-178, 2010.
16. 久保亮治, 天谷雅行: ランゲルハンス細胞による抗原の捕捉機序. **臨床免疫・アレルギー科**, 54 (6): 701-709, 2010.
17. 久保亮治, 天谷雅行: 皮膚バリア機構の新しい理解-体表における防御と素敵のメカニズム. **HUMAN SCIENCE**, 22 (1): 4-13, 2011.
18. 浅野浩一郎: 気管支喘息の遺伝素因 up to date. **呼吸**, 30: 20-24, 2011.
19. 久保亮治, 天谷雅行: 皮膚バリア機構とアトピー性皮膚炎. **実験医学2011年6月増刊号「疾患発症の影に潜む慢性炎症の分子機構と先進医療」**: 印刷中.
20. 久保亮治: 皮膚バリアとランゲルハンス細胞の動態. **日本臨床免疫学会会誌 特集号: 皮膚の臨床免疫**, 34 (2): 印刷中.
21. 久保亮治: 表皮バリアとタイトジャンクション. **臨床皮膚科増刊号特集 最近のトピックス2011 Clinical Dermatology 2011**: 印刷中.
22. 峠岡理沙, 加藤則人: アトピー性皮膚炎の病態と血小板. **日本血栓学会誌**: 印刷中.
23. 加藤則人: アトピー性皮膚炎のプロアクティブ療法. **臨床皮膚科**: 印刷中.

2. 学会発表

<英語発表>

1. Nagao K, Baba A, Ouchi T, Kurihara Y, Takae Y, Amagai M: T cell immunoreactivity to cefozopran, but not to phenytoin, in the early phase of drug induced hypersensitivity syndrome. **Drug Hypersensitivity Meeting 4**, Rome, Italy, 2010. 4. 22- 25.
2. Kubo A, Nagao K, Yokouchi M, Yoshida K, Sasaki H, Amagai M: Langerhans cell dendrites penetrate through epidermal tight junction barrier during foreign antigen uptake. **70th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology**, 2010. 5. 6.
3. Kawasaki H, Kubo A, Nagao K, Hata T, Yokouchi M, Yoshida K, Mizuno H, Yamada T, Amagai M: Filaggrin knockout mice as a tool for understanding the pathogenesis of atopic dermatitis. **14th International Congress of Immunology**, Kobe, Japan, 2010. 8. 22- 27.
4. Moniaga CS, Egawa G, Kawasaki H, Hara-Chikuma M, Honda T, Tanizaki H, Nakajima S, Otsuka A, Matsuoka H, Kubo A, Tokura Y, Miyachi Y, Amagai M, Kabashima K: Flaky tail mouse denotes human atopic dermatitis in the steady state and by topical application with Dermatophagoides pteronyssinus extract. **14th International Congress of Immunology**, Kobe, Japan, 2010. 8. 22- 27.
5. Kubo A: Epidermal tight junction barriers and trans-tight junction antigen uptake activity of Langerhans cells. **The 25th Annual Meeting of the Japanese Society for Psoriasis Research**, 2010. 9. 3.
6. Kubo A: Structural and Immunological Barriers of Vertebrate Skin. **Seminar in Department of Dermatology, University of Pennsylvania**, 2010. 10. 12.
7. Amagai M: Overview on autoimmunity and autoinflammation. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.
8. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Mizuno H, Yamada T, Amagai M: Filaggrin-nul mice exhibit altered skin barrier formation and enhanced percutaneous immune responses. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.
9. Sugawara T, Akashi M, Yuki T, Nakagawa N, Sasaki S, Sugiyama Y, Inoue S, Furuse M: Impaired stratum corneum formation in claudin-1-deficient mice with defects in tight junction function. **The 35th Annual**

Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.

10. Yokouchi M, Kubo A, Kawasaki H, Amagai M: Maintenance of intact epidermal tight junction barriers in filaggrin-deficient mouse models. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.**
11. Kubo A: Molecular Barriology of the Skin: Dynamic Interaction between Surface Physical Barriers and Immune System. **The 82th KEIO COEX meeting, 2010. 12. 17.**

〈日本語発表〉

1. 久保亮治: External antigen uptake by Langerhans cells with reorganization of epidermal tight junction barriers. **第109回日本皮膚科学会総会 皆見省吾記念賞受賞記念講演, 2010. 4. 16.**
2. 久保亮治: Molecular Barriology of the Skin. **第109回日本皮膚科学会総会特別企画「未来皮膚科学」, 2010. 4. 16.**
3. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の治療ガイドラインと正しい治療 (教育講演). **第109回日本皮膚科学会総会, 大阪市, 2010. 4. 16.**
4. 古瀬幹夫: タイトジャンクションのかたちと機能 (教育講演). **第109回日本皮膚科学会総会, 大阪, 2010. 4. 18**
5. 小川里佳, 浅野浩一郎, 加川志津子, 松崎達, 寺島毅, 藤島清太郎, 石坂彰敏: 二本鎖RNAによる気道炎症・気道過敏性亢進とIL-17. **第50回日本呼吸器学会総会, 京都, 2010. 4. 23- 25.**
6. 加藤則人: 小児アトピー性皮膚炎の疫学 (シンポジウム 小児のアトピー性皮膚炎). **第22回日本アレルギー学会春期臨床大会, 京都市, 2010. 5. 8.**
7. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の疫学-予後を中心に- (シンポジウム アレルギー性疾患の疫学-予後を中心に-). **第22回日本アレルギー学会春期臨床大会, 京都市, 2010. 5. 9.**
8. 久保亮治, 永尾圭介, 横内麻里子, 吉田和恵, 川崎洋, 佐々木博之, 天谷雅行: Langerhans cell dendrites penetrate through epidermal tight junction barrier during foreign antigen uptake. **第62回日本細胞生物学会大会, 2010. 5. 19- 21.**
9. 天谷雅行: アトピーと皮膚バリア. **第26回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会, 東京, 2010. 5. 29- 30.**
10. 天谷雅行: 皮膚バリアとアトピー性疾患. **第9回皮膚科EBMフォーラム, 札幌, 2010. 6.**
- 26.
11. 久保亮治: 皮膚が隔てる外と内: 皮膚バリア機構の細胞生物学. **神奈川県皮膚科医会第133回例会・総会, 2010. 7. 4.**
12. 菅井基行: 黄色ブドウ球菌の病原性-系統解析からのアプローチ Pathogenicity of Staphylococcus aureus-comapartive genomic approach. **大阪大学微生物病研究所Advanced Seminar Series, 吹田市, 2010. 7. 9.**
13. 久保亮治, 永尾圭介, 横内麻里子, 吉田和恵, 佐々木博之, 天谷雅行: 表皮タイトジャンクションバリアの生物学. **第17回分子皮膚科学フォーラム, 福岡, 2010. 7. 9- 10.**
14. 久保亮治: 皮膚バリア機構の細胞生物学. **皮膚基礎研究クラスターフォーラム: 第5回教育セミナー, 2010. 8. 10.**
15. 久保亮治: 皮膚が隔てる外と内: 皮膚バリア構造と免疫の視点から. **第22回高遠シンポジウム, 2010. 8. 20.**
16. 菅井基行: 黄色ブドウ球菌の病原性獲得に関わるファージ: 表皮剥脱毒素遺伝子を伝播するファージ. **大阪大学蛋白質研究所セミナー「バクテリオファージ研究の可能性と課題」(第3回ファージ研究会), 吹田市, 2010. 9. 9.**
17. 加藤則人: アトピー性皮膚炎の病態と治療-最近の話題. **日本皮膚科学会中部支部企画研修講習会, 大阪市, 2010. 9. 10.**
18. 村上輝明, 久恒順三, 加藤文紀, 菅井基行: Staphylococcus aureusの新規表層タンパク質Skip. **第63回日本細菌学会中国・四国支部総会, 松山市, 2010. 10. 16.**
19. 久保亮治: 皮膚が隔てる外と内: 皮膚バリア構造と免疫の視点から. **奈良先端大学GCOEセミナー, 2010. 10. 20.**
20. 天谷雅行: 皮膚バリア障害とアトピー性疾患. **第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010. 11. 25- 27.**
21. 浅野浩一郎: シンポジウム「気道構成細胞から喘息の発症メカニズムを探る」 気管支平滑筋細胞. **第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010. 11. 25- 27.**
22. 久保亮治: 皮膚バリア機構の新しい捉え方 (ステロイド・カルシニューリン阻害外用薬の使い方). **第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2010. 11. 26.**
23. 天谷雅行: 皮膚タイトジャンクションとランゲルハンス細胞. **第74回日本皮膚科学会東部支部学術大会, 仙台, 2010. 11. 20- 21.**
24. 樹神元博, 小熊剛, 加川志津子, 加畑宏樹, 上石修史, 田中希宇人, 宮田純, 小倉裕美, 友松克允, 若木美佐, 塩見哲也, 福永興壺, 佐山宏一, 浅野浩一郎: 経皮抗原感作マウスにお

ける気道炎症と気道過敏性亢進の遷延. 第60回日本アレルギー学会秋期学術大会, 東京, 2010. 11. 25- 27.

25. 古瀬幹夫: 細胞接着装置タイトジャンクションによる上皮透過性の制御機構. 第55回日本唾液腺学会, 東京, 2010. 12. 4.
26. 久保亮治: 哺乳類皮膚バリア構造の解析～物理的バリアと免疫細胞の相互作用を中心に～. **BMB2010** (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 2010. 12. 8.
27. 古瀬幹夫, 増田小百合, 小田裕香子: トリセルラータイトジャンクションの分子構築 (ワークショップ 上皮バリアの分子機構: 上皮組織による生体フロントバリア構築). **BMB2010** (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会), 神戸, 2010. 12. 8.
28. 萱井基行: 皮膚バリアー機能を凌駕する黄色ブドウ球菌-系統解析からのアプローチ

ー (ワークショップ 上皮バリア機能の分子機構: 上皮組織による生体フロントラインバリア構築). 第33回日本分子生物学会神戸市, 2010. 12. 8.

29. 久保亮治: 皮膚バリア研究の新展開: タイトジャンクションバリアとランゲルハンス細胞の視点から. アトピー性皮膚炎治療研究会第16回シンポジウム, 2011.2.5.
30. 天谷雅行: フィラグリンとバリア機構. 第19回関東アレルギークラブ, 東京, 2011. 2. 12.
31. 天谷雅行: 皮膚バリア機構とアトピー性疾患. 第16回スキンケア研究会, 静岡, 2011. 3. 3.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 平成 22 年度分担研究報告

フィラグリンノックアウトマウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウスの作製

研究分担者 天谷雅行 慶應義塾大学医学部皮膚科学 教授

研究要旨 正常な角層形成に必須の蛋白質であるフィラグリンの遺伝子変異に基づく皮膚バリア機能異常が、アトピー性皮膚炎発症の主要因であるという仮説が注目されている。我々は上記仮説を検証するため、フィラグリンノックアウトマウスを作製した。マウスの皮膚に色素を塗布し、角層の物質透過性を共焦点顕微鏡により評価したところ、フィラグリンは外から内への物質透過を防ぐ角層のバリア形成に重要であり、その欠損は外来抗原の表皮内への侵入を許すことが示唆された。一方、フィラグリンノックアウトマウスの経皮免疫応答を、刺激性接触皮膚炎反応、ハプテン誘導性接触過敏反応、蛋白抗原塗布後の液性免疫応答のそれぞれで評価したところ、いずれの系においても野生型マウスに比べ、経皮免疫応答の亢進がみられた。我々が作製したフィラグリンノックアウトマウスは、フィラグリンの機能を正しく評価するための重要なツールとなり、皮膚バリア機能異常を有する皮膚への経皮的抗原曝露から疾患が発症するまでのアトピー性皮膚炎発症機序の解明を可能とするマウスモデルの作製に有用である。

研究協力者

永尾圭介 慶應義塾大学医学部皮膚科
専任講師
久保亮治 慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター 特別研究講師
川崎 洋 慶應義学医学部大学院生

るのを防ぐ物質移動の障壁としての作用と考えられる。外界から表皮内への物質の皮膚透過に対しフィラグリン欠損が及ぼす影響について解析した。カルセイン封入りリポソーム(蛍光物質)をマウスの皮膚に塗布し、フィラグリン KO マウスと野生型マウス間での皮膚透過性の差を共焦点顕微鏡により組織学的に検討した。

A. 研究目的

正常な角層形成に必須の蛋白質であるフィラグリンの遺伝子変異に基づく皮膚バリア機能異常が、アトピー性皮膚炎発症の主要因であるという仮説が注目されている。上記仮説を検証し、皮膚バリア機能異常に起因するアトピー性皮膚炎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)マウスを作製した。今年度は、フィラグリン KO マウスを用いてフィラグリンと皮膚バリア機能の関わりを明らかにするとともに、フィラグリン欠損皮膚における経皮的抗原曝露後の免疫応答の詳細を検討した。

2. フィラグリン KO マウスの経皮免疫応答の解析

フィラグリン欠損に伴う皮膚バリア機能異常が、外来抗原に対する経皮免疫応答の亢進を誘導し、アトピー性皮膚炎を発症するという仮説に基づき、フィラグリン KO マウスでは本当に経皮免疫応答が亢進しているのかどうかの解析を行った。

(a) 刺激性接触皮膚炎反応

マウス耳翼に 0.6% croton oil を塗布し、その後の耳翼腫脹を計時的に評価した。

(b) ハプテン誘導性接触過敏反応

剃毛したマウスの腹部に 0.3% DNFB を塗布して感作した 5 日後、マウス耳翼に 0.15% DNFB を塗布した。その後の耳翼腫脹を計時的に評価した。

B. 研究方法

1. フィラグリンと物質皮膚透過性に関する解析

アトピー性皮膚炎の発症に最も影響する皮膚のバリア機能は、外界の抗原が体内へ侵入す

(c) 蛋白抗原に対する液性免疫応答

マウスの耳翼に OVA 水溶液と dibutyl pthalate を 1:1 で混合したものをマウス耳翼に隔日 (3 回/週) で塗布した。8 回目の塗布を行った後、OVA 特異的 IgG, OVA 特異的 IgE を ELISA 法により測定した。

C. 研究結果

1. フィラグリンと物質皮膚透過性に関する解析

組織標本作製の際、川本法という標本作製法を改良することで、観察時の蛍光物質の染み出しを防ぐことに成功した。カルセイン封入りポソームをマウスの皮膚に塗布してから 3 時間後の皮膚を観察したところ、フィラグリン KO マウスでは角層全層に色素が浸透した像を多く観察したのに対し、野生型マウスでは角層表面にのみ色素の沈着を認めた所見がほとんどだった (図 1)。現在は溶媒や物質のサイズを変えて同様の実験を行い、フィラグリン欠損皮膚における物質透過性を明らかにすることを目指している。

2. フィラグリン KO マウスの経皮免疫応答の解析

(a) 刺激性接触皮膚炎反応

フィラグリン KO マウスは野生型マウスに比べ、croton oil 塗布後の耳翼腫脹反応が有意に亢進した。(図 2)

(b) ハプテン誘導性接触過敏反応

フィラグリン KO マウスは野生型マウスに比べ、DNFB によるハプテン誘導性接触過敏反応の有意な亢進を認めた。(図 3)

(c) 蛋白抗原に対する液性免疫応答

OVA を繰り返し塗布した後の抗原特異的 IgG 及び IgE 産生能を ELISA 法により評価したところ、フィラグリン KO マウスは野生型マウスに比べ、血清中 OVA 特異的 IgG1, OVA 特異的 IgE 値の有意な上昇を認めた。(図 4)

D. 考察

カルセイン封入りポソームをマウスの皮膚に塗布した結果より、フィラグリンが外から内への物質透過を防ぐ角層のバリア形成に重要であり、その欠損は外来抗原の表皮内への侵入を許

すことが示唆された。一方、フィラグリン KO マウスの経皮免疫応答の解析から、フィラグリン欠損皮膚では経皮的外来抗原曝露後の免疫応答が亢進していることが示唆された。

以上の結果は、フィラグリンの遺伝子変異に伴う角層のバリア機能異常が、経皮免疫応答を亢進させ、Th2 優位の免疫応答や慢性皮膚炎形成を誘導し、アトピー性皮膚炎が発症するという作業仮説に合致するものだった。今後は抗原の種類、曝露方法を十分に検討することで、安定して皮膚炎を誘導できるアトピー性皮膚炎マウスモデルの作製を目指す。

E. 結論

我々が作製したフィラグリン KO マウスは、フィラグリンの機能を正しく評価するための重要なツールとなり、皮膚バリア機能異常を有する皮膚への経皮的抗原曝露から疾患が発症するまでのアトピー性皮膚炎発症機序の解明を可能とするマウスモデルの作製に有用である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

<英語論文>

1. Moniaga CS, Egawa G, Kawasaki H, Hara-Chikuma M, Honda T, Tanizaki H, Nakajima S, Otsuka A, Matsuoka H, Kubo A, Sakabe J, Tokura Y, Miyachi Y, Amagai M, Kabashima K: Flaky tail mouse denotes human atopic dermatitis in the steady state and by topical application with Dermatophagoides pteronyssinus extract. **Am J Pathol**, 176 (5): 2385-2393, 2010.
2. Kawasaki H, Kubo A, Sasaki T, Amagai M: Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis. **Curr Probl Dermatol**, 41: 35-46, 2011.
3. Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, Tanahashi S, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, Kudoh J, Amagai M: SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. **EMBO Molecular Medicine**: in press, 2011.
4. Amagai M, Matsushima K: Overview on autoimmunity and autoinflammation. **Inflammation and Regeneration**, 31 (1): 50-51, 2011.
5. Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, Amagai M, Tanaka T, Matsunaga K, Muto M, Morita E, Akiyama M, Soma Y, Terui T, Manabe M: Prevalence of dermatological disorders in Japan: A nationwide, cross-sectional, seasonal,

multicenter, hospital-based study. **J Dermatol**, 38: 353-363, 2011.

<日本語論文>

1. 久保亮治, 天谷雅行: 皮膚バリア研究の新展開. **FRAGRANCE JOURNAL**, 38 (5): 14-18, 2010.
2. 久保亮治, 天谷雅行: ランゲルハンス細胞による抗原の捕捉機序. **臨床免疫・アレルギー科**, 54 (6): 701-709, 2010.
3. 久保亮治, 天谷雅行: 皮膚バリア機構の新しい理解-体表面における防御と索敵のメカニズム. **HUMAN SCIENCE**, 22 (1): 4-13, 2011.

<総説>

1. Kawasaki H, Kubo A, Sasaki T, **Amagai M**: Loss-of-function mutations within the filaggrin gene predispose to atopic dermatitis. **Curr Probl Dermatol**. 41: 35-46, 2011 (in press)

2. 学会発表

1. 天谷雅行: 皮膚バリア機構とアトピー性疾患. **第16回スキンケア研究会**, 静岡, 2011. 3. 3.
2. 天谷雅行: フィラグリニンとバリア機構. **第19回関東アレルギークラブ**, 東京, 2011. 2. 12.
3. Yokouchi M, Kubo A, Kawasaki H, **Amagai M**: Maintenance of intact epidermal tight junction barriers in filaggrin-deficient mouse models. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, 和歌山, 2010. 12. 3- 5.
4. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Mizuno H, Yamada T, **Amagai M**: Filaggrin-nul mice exhibit altered skin barrier formation and enhanced percutaneous immune responses. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.
5. **Amagai M**: Overview on autoimmunity and autoinflammation. **The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Wakayama, Japan, 2010. 12. 3- 5.
6. 天谷雅行: 皮膚タイトジャンクションとランゲルハンス細胞. **第74回日本皮膚科学会東部支部学術大会**, 仙台, 2010. 11. 20- 21.
7. 天谷雅行: 皮膚バリア障害とアトピー性疾患. **第60回日本アレルギー学会秋季学術大会**, 東京, 2010. 11. 25- 27.
8. 川崎洋, 海老原全, 永尾圭介, 久保亮治, 佐々木貴史, 定平知江子, 畑毅, 純 工, 天谷雅行:

当科アトピー性皮膚炎患者のフィラグリニン遺伝子変異解析とフィラグリニン欠損マウスの作製. **第6回TAP (Tokyo scientific forum for Atopic Dermatitis and Psoriasis)**, 東京, 2010. 11. 13.

9. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Mizuno H, Yamada T, **Amagai M**: Filaggrin knockout mice as a tool for understanding percutaneous antigen exposure in barrier-disrupted skin. **the 40th Annual Meeting of European Society for Dermatological Research**, Helsinki, Finland, 2010. 9. 8- 11
 10. Moniaga CS, Egawa G, Kawasaki H, Hara-Chikuma M, Honda T, Tanizaki H, Nakajima S, Otsuka A, Matsuoka H, Kubo A, Tokura Y, Miyachi Y, **Amagai M**, Kabashima K: Flaky tail mouse denotes human atopic dermatitis in the steady state and by topical application with *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. **14th International Congress of Immunology**, Kobe, Japan, 2010. 8. 22- 27.
 11. Kawasaki H, Kubo A, Nagao K, Hata T, Yokouchi M, Yoshida K, Mizuno H, Yamada T, **Amagai M**: Filaggrin knockout mice as a tool for understanding the pathogenesis of atopic dermatitis. **14th International Congress of Immunology**, Kobe, Japan, 2010. 8. 22- 27.
 12. 久保亮治, 永尾圭介, 横内麻里子, 吉田和恵, 佐々木博之, 天谷雅行: 表皮タイトジャンクションバリアの生物学. **第17回分子皮膚科学フォーラム**, 福岡, 2010. 7. 9- 10.
 13. 天谷雅行: 皮膚バリアとアトピー性疾患. **第9回皮膚科EBMフォーラム**, 札幌, 2010. 6. 26.
 14. 天谷雅行: アトピーと皮膚バリア. **第26回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会**, 東京, 2010. 5. 29- 30.
 15. Nagao K, Baba A, Ouchi T, Kurihara Y, Takae Y, **Amagai M**: T cell immunoreactivity to cefozopran, but not to phenytoin, in the early phase of drug induced hypersensitivity syndrome. **Drug Hypersensitivity Meeting 4**, Rome, Italy, 2010. 4. 22- 25.
- G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他

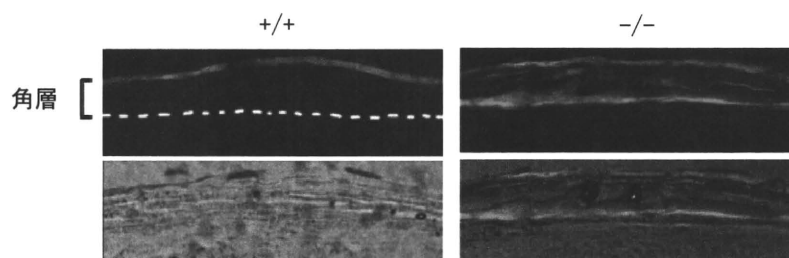


図1 カルセイン封入リポソーム経皮的塗布後の色素透過性の比較（下段は透過光）
 フィラグリン KO マウス(-/-)では角層全層に色素が浸透した像を部分的に観察した
 のに対し、野生型マウス(+/-)ではほぼ皮膚全周に角層表面にのみ色素の沈着を認めた。

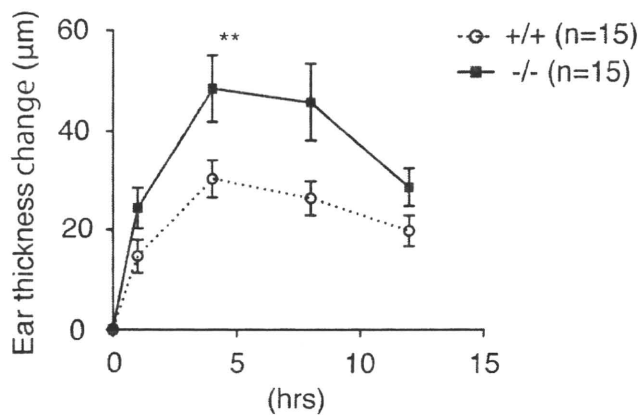


図2 野生型マウス(+/-)とフィラグリン欠損マウス(-/-)の croton oil 塗布後の刺激性接触皮膚炎反応の比較

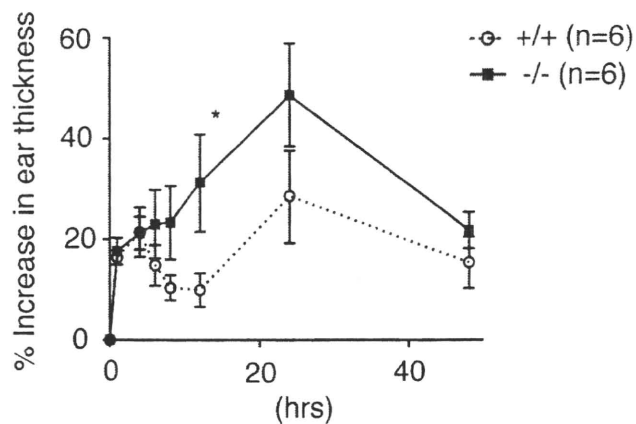


図3 野生型マウス(+/-)とフィラグリン欠損マウス(-/-)のハプテン(DNFB)誘導性接触過敏反応の比較

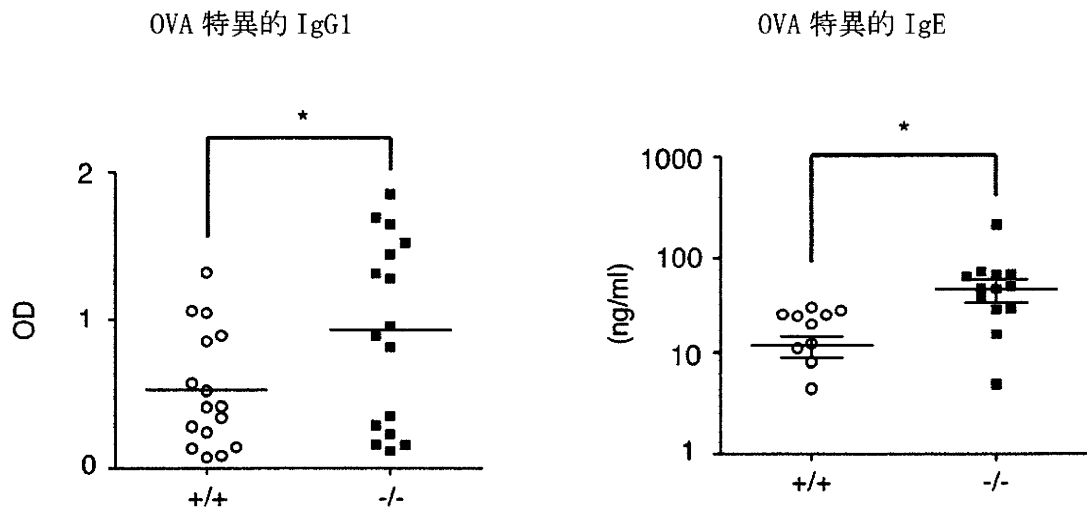


図 4 野生型マウス(+/+)とフィラグリン欠損マウス(-/-)の蛋白抗原 (OVA) 繰り返し塗布後の抗原特異的 IgG1 及び IgE 産生能の比較