

201229003A

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (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24年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成25(2013)年 5月

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (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24年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成25 (2013) 年 5月

目 次

I. 平成24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24年度分担研究報告	
フィラグリン欠損皮膚と角層水分保持に関する検討	11
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 教授 天谷 雅行	
表皮バリア機能障害・経皮感作による喘息重症化とIL-23/Th17応答	15
東海大学医学部 呼吸器内科学 教授 浅野 浩一郎	
アトピー由来株黄色ブドウ球菌の皮膚定着能に関する研究	18
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	
皮膚表皮特異的遺伝子による角質層制御機構に関する研究	21
京都大学 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS) 特定拠点助教 松井 毅	
自然発症アトピー性皮膚炎マウスの解析	24
慶應義塾大学医学部皮膚科学 専任講師 永尾 圭介	
ヒト表皮タイトジャンクションによるバリア機能の解析に関する研究	26
慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター 特任講師 久保 亮治	
皮膚バリア機能関連蛋白の遺伝子解析	30
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患者における新規AD原因遺伝子同定の試み	35
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 准教授 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	40
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	43
IV. 平成24年度班会議プログラム	47
V. 平成24年度構成員名簿	63

I. 平成 24 年度総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業))
総括研究報告書

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を同定する。

平成24年度は、フィラグリンノックアウト (KO) マウスとヘアレスマウスを交配し、より詳細に角層、表皮を観察する事が可能となった。経皮的なダニ抗原感作による喘息モデルでは、フィラグリンKOマウスでWTよりも気管支肺胞洗浄 (BAL) 液中の好酸球数、肺組織中のTh17細胞が増加し、肺細胞、脾細胞からのIL-17A産生も亢進していたことが観察され、皮膚バリア障害と気道炎症の関係が明らかにされた。アトピー性皮膚炎患者から分離された複数の黄色ブドウ球菌株が、野生型マウスに比べ、著しく強くフィラグリンKOマウス皮膚に固着していることが示された。また得られたドラフトゲノム配列の比較解析から、AD株が持つ特有のserine protease様遺伝子、exotoxin遺伝子、II型制限修飾系遺伝子を同定し、アトピー性皮膚炎患者皮膚で高率に黄色ブドウ球菌が分離される機序の一端が解明された。日本人アトピー性皮膚炎患者36人に対して次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析により、新たにS783*、S2337*、Q3365*の3種類のナンセンス変異とフレームシフト変異6834-6838delCTCCAを同定した。日本人で同定された合計12種のFLG変異保有率は23.5% (8/34) となった。生活習慣と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において、介入後の学童が次年度入学するため、詳細な効果の検討は引き続き検討されることとなった。

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

菅井基行 広島大学大学院医歯薬保健学
研究院細菌学 教授
工藤 純 慶應義塾大学医学部
遺伝子医学 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 教授
浅野浩一郎 東海大学医学部
呼吸器内科 教授

松井 毅 京都大学 物質-細胞統合シス
テム拠点 特定拠点助教
海老原 全 慶應義塾大学医学部
皮膚科 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 特任講師
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を同定する。

本年度は、フィラグリンノックアウト(KO)マウスをヘアレスマウスに交配し、より効率的な角層機能評価系を確立するとともに、経皮抗原感作による喘息モデルマウスを免疫学的に解析する。アトピー性皮膚炎患者皮膚において高率に検出される黄色ブドウ球菌が、皮膚炎発症後付着するのか、皮膚炎発症前からフィラグリンが欠損しているだけで皮膚に付着しやすくなるのか、フィラグリン欠損の有無と黄色ブドウ球菌の角層への付着性、固着性の関連を検討する。フィラグリン欠損時、皮膚炎発症時のタイトジャンクションの構造、機能を解析する。本研究開始時より継続的に行っているフィラグリン遺伝子新規変異の探索、フィラグリン以外の皮膚バリア機能関連蛋白の遺伝子解析を進めるとともに、日本人データの蓄積、バリア機能低下とアレルギー疾患発症の疫学的解析を継続する。

B. 研究方法

1) フィラグリンKOマウスの角層機能解析

フィラグリンKOマウスをHos:HR-1マウス(星野試験動物飼育所)と交配し、フィラグリンKOヘアレスマウスを作成した。角層内水分量とTEWLを、標準湿度環境(湿度40-60%)下で、それぞれVAPOSCAN AS-VT100RS (Asahi Biomed), Corneometer ASA-M2 (Asahi Biomed)を用いて測定、評価した。

2) フィラグリンKOマウスを用いた喘息モデルマウスの開発

耳介にダニ抽出抗原軟膏あるいはワセリン軟膏を繰り返し3週間塗布した後に同抗原溶液の点鼻吸入を行うダニ軟膏

モデルと、マウスの背部を剃毛し卵白アルブミン(OVA)を浸み込ませたパッチを3週間繰り返し貼付した後にOVAエアロゾル吸入を行うOVAパッチモデルを確立した。野生型マウス(WT)、フィラグリンKOマウスにおけるこれら皮膚低侵襲な喘息モデルでの気道過敏性、気道炎症を評価した。

3) フィラグリンKO角層における黄色ブドウ球菌付着性・固着性の検討

AmCyan遺伝子を黄色ブドウ球菌発現用ベクターpKATに組み込み、AD由来黄色ブドウ球菌TF3378株に導入し、GFP発現黄色ブドウ球菌を作製した。また、黄色ブドウ球菌の各種疾患由来臨床分離21株について、Illumina GIIxを用いてゲノムのドラフト配列を取得し、アトピー性皮膚炎由来株の特徴を解析した。

4) アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける黄色ブドウ球菌の役割の検討

TACE (TNF α -converting enzyme)/ADAM17を表皮で欠損させたTACE^{flox/flox}/SOX9-Creマウスにおける皮膚炎発症と黄色ブドウ球菌の付着の関係を検討した。

5) 表皮タイトジャンクションのバリア機能解析

フィラグリンKOマウスおよび皮膚炎モデルマウスを用いて、表皮TJバリアの構造・機能の変化について解析した。

6) 皮膚バリア機能関連蛋白遺伝子の解析

次世代シーケンサー(NGS)を用いたFLG遺伝子の全解読と日本人AD患者群における新規FLG変異解析を行った。

7) 皮膚バリア機能を改善させる生活習慣と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、皮膚科検診、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した。

C. 研究結果

1) フィラグリンKOマウスの角層機能解析

フィラグリンKOヘアレスマウスの皮膚は、皮溝が深く鱗屑を伴い、尋常性魚鱗癬の外観に類似した。日齢3-4と4週齢の

ヘアレスマウスの角層内水分量は、野生型とフィラグリン欠損ヘアレスマウス間で差異を認めなかった。しかし、6週齢以降では、野生型に比べフィラグリン欠損ヘアレスマウスで角層内水分量の減少を観察した。一方、TEWLに関しては、観察期間全てに渡って野生型ヘアレスマウスとの間に差を認めなかった。

2) フィラグリンK0マウスを用いた喘息モデルマウスの開発

ダニ軟膏モデルでは、フィラグリンK0マウスでWTよりも気管支肺胞洗浄(BAL)液中の好酸球数、肺組織中のTh17細胞が増加し、肺細胞、脾細胞からのIL-17A産生も亢進していた。以上より皮膚バリア障害の存在下でIL-23を介したTh17活性化が生じやすい状態にあり、これが気道炎症増悪に関与していることが示唆された。

3) フィラグリン欠損角層における黄色ブドウ球菌付着性・固着性の検討

固着実験ではアトピー性皮膚炎(AD)由来株TF3378は野生型に比較してフィラグリンK0マウスの皮膚表面に著しく強い固着性を示した。他のAD株も同様な傾向を示した。このことから、AD由来株は皮膚付着してから比較的長時間、フィラグリン欠損皮膚に持続的に接着する事が明らかとなった。また得られたドラフトゲノム配列の比較解析から、AD株が持つ特有のserine protease様遺伝子、exotoxin遺伝子、II型制限修飾系遺伝子を同定した。加えて、AD株は分泌型毒素やエンテロトキシン等のスーパー抗原や外来性遺伝子を持たないことがわかった。さらにFLG-K0マウスでの黄色ブドウ球菌の皮膚層局在を観察する為にAmCyan発現AD株を樹立した。

4) アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける黄色ブドウ球菌の役割の検討

興味深いことにTACE/SOX9マウスの皮膚には黄色ブドウ球菌のcolonizationが認められ、分離される黄色ブドウ球菌のコロニー数は症状の悪化と共に増加していく傾向を示した。また遺伝子学的な解析の結果、分離される菌は毒素を産生しないタイプであり、アトピー性皮膚炎患者から分離されるタイプと類似していた。

5) 表皮タイトジャンクションのバリア

機能解析

フィラグリンK0マウスの表皮TJは、皮膚切片の染色像、皮膚表皮シートの3次元観察において、形態学的異常を認めなかった。sulfo-NHS-LC-biotinをプローブに用いたin vivo浸透性評価では、新生児期および成体のいずれにおいても、野生型との間に違いは認められなかった。また、表皮より抽出したmRNAを用いて様々なTJ関連蛋白の発現変化を調べたが、野生型との間に違いは認められなかった。以上から、フィラグリン欠損のみでは、表皮のTJバリア機能異常は来さないことが明らかとなった。一方、DNFBを繰り返し塗布して作成した皮膚炎モデルマウス皮膚では、クローディン1の発現低下が認められ、in vivo透過性試験において表皮TJバリアをsulfo-NHS-LC-biotinが通過するようになっていることが明らかとなった。

6) 皮膚バリア機能関連蛋白遺伝子の解析

日本人AD患者36人に対してFLG-NGS shotgun解析を行った結果、新たにS783*、S2337*、Q3365*の3種類のナンセンス変異とフレームシフト変異6834-6838delCTCCAを同定した。その結果、これまでに日本人で同定された8種のFLG変異保有率は14.7% (5/34)であったが、新たに同定した4種を加えると23.5% (8/34)となった(同定した4種の変異の1つは、既知のFLG変異の保有者が持っていた)。

7) 皮膚バリア機能を改善させる生活習慣と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5.6%、乾燥皮膚のみを呈する小児は14.3%と、例年と同程度であった。一方IgE値は、これまでのアトピー性皮膚炎患児の血清総IgE値、ダニ特異IgE値に比べて、今年はかなり低下していた。

D. 考察

本年度は、フィラグリンK0マウスとヘアレスマウスを交配し、より詳細に角層、表皮を観察する事が可能となった。親から離乳し、脱毛が終わる6週齢以降より、フィラグリンK0ヘアレスマウスで角層内水分

量の減少を認めたことにより、フィラグリン欠損は角層水分量の低下を導くが、毛で体表を覆われたり親の保護を受けたりする時期は、フィラグリン欠損があっても何らかの代償機構により、見かけ上角層水分量が維持された可能性が示唆された。また、体毛等の保護がなくなるとフィラグリン欠損マウスでは角層水分量の低下が進むことから、乾燥等の環境要因がフィラグリン欠損皮膚の角層水分保持に影響する可能性が考えられた。

アトピー性皮膚炎由来ブドウ球菌株は野生型の皮膚より著しく強くフィラグリン欠損皮膚に固着していた。付着の程度は野生型、フィラグリンKOマウスで顕著な違いが認められないため、付着した後の皮膚での増殖に違いが生じたと考えられるが、その機序は不明である。アトピー性皮膚炎由来株の比較ゲノム解析アプローチから、特有遺伝子の保有等が見つかってきた。今後、これらの遺伝子の皮膚固着性への関与を解析する必要がある。今回の結果はアトピー性皮膚炎患者から分離される黄色ブドウ球菌の病理学的意義を明らかにする糸口になる可能性があると考えられる。さらに、TACE/SOX9マウスは掻痒や高IgE値を示すと共に、黄色ブドウ球菌の colonization というヒトのアトピー性皮膚炎に特徴的な表現型を示すことが明らかとなった。今後はTACE/SOX9マウス皮膚における黄色ブドウ球菌の増殖の機序および皮膚炎悪化への関与を解明したい。

タイトジャンクションは、フィラグリン欠損による検出可能な異常は観察されなかった。一方、皮膚炎が誘導された後では、表皮タイトジャンクションバリアの部分的な破綻を引き起こされた。フィラグリン欠損に端を発するアトピー性皮膚炎においては、障害された角質バリアの下で感作がまず成立し、その後、抗原の侵入に引き続いて皮膚炎が生じたときに二次的に、表皮TJバリアが障害されることが示唆された。表皮TJバリアが障害されると二次的に角質の形成異常が起こることがクローディン1 KOマウスの解析より示されており、炎症、TJバリア障害、角質形成異常、さらなる抗原侵入にともなる炎症の悪化、という悪

循環が生じることが考えられた。

フィラグリン遺伝子変異解析は、FLG 遺伝子特有の長大なリピート配列のため、個々に全解読を実施することが大変困難であった。今回開発したFLG-NGS shotgun法は次世代シーケンサーの膨大なデータ量を利用し、得られた配列からFLGを含む元のゲノムDNA配列を再構築しFLG変異を同定する方法である。今回、AD患者36人から4種類のFLG変異を新たに同定した。このうち2種類の新規変異は以前にFLG-shotgun法で全解読した際には見落としていたものであり、FLG-NGS shotgun法は、従来法に比べて簡便で低コストであるばかりか検出精度も上がっていることが実証された。このことから日本人集団にはこれまでの解析では見落とされていた頻度の低い未知のFLG変異が多く存在する事が予測された。

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着実に確立されつつある。

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. Kayama S, Shigemoto N, Kuwahara R, Onodera M, Yokozaki M, Ohge H, Kato F, Hisatsune J, Sugai M: Rapid detection of blaIMP-6 by amplification refractory mutation system. **Journal of microbiological methods**, 88 (1): 182-184, 2012.
2. Shigemoto N, Kuwahara R, Kayama S, Shimizu W, Onodera M, Yokozaki M, Hisatsune J, Kato F, Ohge H, Sugai M: Emergence in Japan of an imipenem-susceptible, meropenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaIMP-6. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, 72 (1): 109-112, 2012.

3. Sandilands A, Brown SJ, Goh CS, Pohler E, Wilson NJ, Campbell LE, Miyamoto K, Kubo A, Irvine AD, Thawer-Esmail F, Munro CS, McLean WH, Kudoh J, Amagai M, Matsui T: Mutations in the SASPase gene (ASPRV1) are not associated with atopic eczema or clinically dry skin. **J Invest Dermatol**, 132 (5): 1507-1510, 2012.
4. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, Amagai M: Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. **J Allergy Clin Immunol**, 129 (6): 1538-1546, 2012.
5. Kotani H, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Nomiyama T, Soga F, Nin M, Asai J, Kishimoto S, Katoh N: Increased plasma LIGHT levels in patients with atopic dermatitis. **Clin Exp Immunol**, 168 (3): 318-324, 2012.
6. Nagao K, Kobayashi T, Moro K, Ohyama M, Adachi T, Kitashima DY, Ueha S, Horiuchi K, Tanizaki H, Kabashima K, Kubo A, Cho YH, Clausen BE, Matsushima K, Suematsu M, Furtado GC, Lira SA, Farber JM, Udey MC, Amagai M: Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin. **Nat Immunol**, 13 (8): 744-752, 2012.
7. Nagao K, Kobayashi T, Ohyama M, Akiyama H, Horiuchi K, Amagai M: Brief Report: Requirement of TACE/ADAM17 for Hair Follicle Bugle Niche Establishment. **Stem Cells**, 30 (8): 1781-1785, 2012.
8. Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, Okuyama T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Ishiko A, Tanese K, Miyakawa SI, Sakabe JI, Kuwahara M, Amagai M, Okano H, Suematsu M, Kudoh J: Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis. **J Dermatol Sci**, 68 (1): 36-44, 2012.
9. Hirota T, Takahashi A, Kubo M, Tsunoda T, Tomita K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Tanaka S, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Okumura K, Ogawa H, Ikeda S, Noguchi E, Sakamoto T, Hizawa N, Ebe K, Saeki H, Sasaki T, Ebihara T, Amagai M, Takeuchi S, Furue M, Nakamura Y, Tamari M: Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. **Nat Genet**, 44 (11): 1222-1226, 2012.
10. Kubo A, Nagao K, Amagai M: 3D visualization of epidermal langerhans cells. **Methods Mol Biol**, 961: 119-127, 2013.
11. Miyata J, Fukunaga K, Iwamoto R, Isobe Y, Niimi K, Takamiya R, Takihara T, Tomomatsu K, Suzuki Y, Oguma T, Sayama K, Arai H, Betsuyaku T, Arita M, Asano K: Dysregulated synthesis of protectin D1 in eosinophils from patients with severe asthma. **J Allergy Clin Immunol**, 131 (2): 353-360 e351-352, 2013.
12. Sano Y, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Matsunaka H, Murakami Y, Yamashita R, Morita E, Katoh N: Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in the horny layer of patients with atopic dermatitis. **Clin Exp Immunol**, 171 (3): 330-337, 2013.
13. Kanda S, Sasaki T, Shiohama A, Nishifuji K, Amagai M, Iwasaki T, Kudoh J: Characterization of canine filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin. **Vet Dermatol**, 24 (1): 25-31 e27, 2013.
14. Furusho H, Miyauchi M, Hyogo H, Inubushi T, Ao M, Ouhara K, Hisatune J, Kurihara H, Sugai M, Hayes CN, Nakahara T, Aikata H, Takahashi S, Chayama K, Takata T: Dental infection of Porphyromonas gingivalis exacerbates high fat diet-induced steatohepatitis in mice. **Journal of gastroenterology**, 2013.
15. Sugawara T, Iwamoto N, Akashi M, Kojima T, Hisatsune J, Sugai M, Furuse M: Tight junction dysfunction in the stratum granulosum leads to aberrant stratum corneum barrier function in claudin-1-deficient mice. **J Dermatol Sci**, 2013.
16. Yoshida K, Yokouchi M, Nagao K,

Ishii K, Amagai M, Kubo A:
Functional tight junction barrier
localizes in the second layer of the
stratum granulosum of human
epidermis. **J Dermatol Sci**, in press.

<日本語論文>

1. 浅野浩一郎: 気道過敏性(獲得と経過) 経皮感作と気道過敏性. 日本小児アレルギー学会誌, 26 (1): 46-51, 2012.
2. 松井毅: 表皮顆粒層に特異的に発現するプロテアーゼSASPaseと角質層の保湿機構. 臨床免疫・アレルギー科, 58 (3): 305-312, 2012.
3. 久保亮治: 皮膚の物理的バリアと免疫のかかわり. 医学のあゆみ, 242 (10): 774-779, 2012.
4. 天谷雅行: 皮膚バリアの3次元構造(図説). 臨床のあゆみ, 94: 13-14, 2012.
5. 天谷雅行: (病態・治療Q&A) 皮膚バリアについてお教えてください. 臨床のあゆみ, 94: 7-8, 2012.
6. 久保亮治: 三次元イメージングで出会う皮膚銀河の天の川. 日本皮膚科学会雑誌・臨時増刊号, 122 (13): 3697-3699, 2012.
7. 久保亮治: 皮膚タイトジャンクションバリアと疾患. 日本皮膚科学会雑誌・臨時増刊号, 122 (13): 3268-3270, 2012.
8. 川崎洋, 天谷雅行: フィラグリン欠損による角層バリア障害とアトピー性皮膚炎. 臨床免疫・アレルギー科, 59 (2): 153-159, 2013.
9. 川崎洋, 久保亮治: 皮膚バリア機能と経皮感作. アレルギーの臨床, 33 (2): 121-126, 2013.

2. 学会発表

<英語発表>

1. Kobayashi T, Horiuchi K, Ohyama M, Akiyama H, Amagai M, Nagao K: Requirement of TACE/ADAM17 for the maintenance of hair follicle stem cell niche. **The 75th Annual Meeting of Society for Investigative Dermatology**, Raleigh, North Carolina, USA, 2012. 5. 9- 12.
2. Kubo A: Molecular Barriology of the Skin ~Unlock the Puzzle of Skin Barrier and Allergic Diseases~. **Kanrinmaru Project Seminar 2012**, Tokyo, 2012. 5. 17.
3. Suzuki Y, Masaki K, Kagawa S,

Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Betsuyaku T, Amagai M, Asano K: Epicutaneous sensitization in filaggrin gene-depleted mouse induces prolonged airway eosinophilia and goblet cell hyperplasia without obvious dermatitis. **The American Thoracic Society's 2012 International Conference**, San Francisco, California, USA, 2012. 5. 18- 23.

4. Asano K: Anti-inflammatory lipid mediators and severe asthma - what we learn from lipidomics analysis of eosinophils -. **2012 KAAACI (Korean Academy of Allergy, Asthma, and Clinical Immunology) annual international congress and East Asia Allergy Symposium**, Seoul, Korea, 2012. 5. 25- 26.
5. Matsui T: Mammalian Skin-specific Retroviral-like Aspartic Protease, SASPase is a Key Modulator of Skin Moisturization. **Joint Meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists & The 64th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology**, Kobe, Japan, 2012. 5. 28- 31.
6. Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, Kudoh J, Amagai M: Mammalian skin-specific retroviral-like aspartic protease, SASPase is a key modulator of skin moisturization. 第45回発生生物学会／第64回日本細胞生物合同大会, 神戸, 2012. 5. 28- 31.
7. Amagai M: Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. **Federation of Clinical Immunology Societies 2012**, Vancouver, Canada, 2012. 6. 20- 23.
8. Kanda S, Sasaki T, Shiohama A, Nishifuji K, Amagai M, Kudoh J, T. I: Characterization of dog filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin. **7th World Congress of Veterinary Dermatology**, Vancouver, Canada, 2012. 7. 24- 28.
9. Matsui T: Mammalian Skin-specific Retroviral-like Aspartic Protease, SASPase is a Key Modulator of Skin Moisturization **Fujihara Seminar 2012 A new horizon of retroposon research**, Kyoto, Japan, 2012. 7. 31-

8. 3.
10. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Ohashi Y, Amagai M: High-resolution TOF-SIMS Imaging reveals Multi-layered Barrier Structure of the Stratum Corneum of Skin. **19th International Mass Spectrometry Conference**, Kyoto, Japan, 2012. 9. 16- 17.
 11. Kubo A: The stratum corneum comprises three layers with distinct barrier properties, as revealed by TOF-SIMS imaging. **61st Annual Montagna Symposium on the Biology of Skin**, Oregon, USA, 2012. 10. 11- 15.
 12. Matsui T: Endogenous Retroviral-like Aspartic Protease, SASPase as a Key Modulator of Skin Moisturization. **The Montagna Symposium on the Biology of the Skin**, Oregon, USA, 2012. 10. 11- 15.
 13. Kubo A, Yoshida K, Yokouchi M, Ishii K, Kawasaki H, Ebihara T, Nagao K, Amagai M: Dendritic cells penetrate epidermal tight junction barriers to uptake external antigens: a possible involvement in atopic dermatitis. **Molecular Structure and Function of the Apical Junctional Complex in Epithelia and Endothelia 2012**, Melida, Mexico, 2012. 10. 30- 11. 7.
 14. Amagai M: Skin barrier dysfunction and cutaneous sensitization. **International Meeting of the German Society for Cell Biology, Molecular concepts in epithelial differentiation, pathogenesis and repair**, Leipzig, Germany, 2012. 11. 7- 10.
 15. Matsui T: Endogenous Retroviral-like Aspartic Protease, SASPase as a Key Modulator of Skin Moisturization and Evolution. **6th Annual Symposium on Nanobiotechnology, Kyoto Cell-Material Integration**, Kyoto, Japan, 2012. 11. 8- 9.
 16. , 2012. 11. 8- 9.
 17. Amagai M: Three musketeers of skin barrier and atopic diseases. **Post-Congress in Tokyo, 10th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology**, Tokyo, Japan, 2012. 11. 19.
 18. Amagai M: The three musketeers of the epidermal barrier and cutaneous sensitization. **Final Symposium of Global COE**, Tokyo, 2012. 12. 3- 4.
 19. Kubo A: 3D Imaging of the Mammalian Epidermis. **37th Annual Meeting of the Japanese society for Investigative Dermatology**, Naha, Okinawa, 2012. 12. 7- 8.
 20. Amagai M: The three musketeers of the epidermal barrier in atopic diseases. **The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Okinawa, Japan, 2012. 12. 7- 9.
 21. Sano Y, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Murakami Y, Matsunaka H, Morita E, Katoh N: Thymic stromal lymphopoietin is increased in the horny layer in patients with atopic dermatitis. **The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology**, Okinawa, Japan, 2012. 12. 7- 9.
 22. Matsui T: Mammalian Skin-specific Retroviral-like Aspartic Protease, SASPase is a Key Modulator of Skin Moisturization and Evolution. **The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan**, Fukuoka, Japan 2012. 12. 11- 14.
 23. Amagai M: Skin barrier dysfunction and cutaneous sensitization. **The Second Immunology Symposium of The University of Tokushima "Immune Development, Deviation, and Regulation"**, Tokushima, Japan, 2013. 1. 24- 25.
 24. Masaki K, Suzuki Y, Kagawa S, Kodama M, Kabata H, Tanaka K, Miyata J, Fukunaga K, Oguma T, Betsuyaku T, Asano K: Different roles of interleukin-23 during the epicutaneous sensitization and the antigen exposure to the airways on airway inflammation and responsiveness in mice. **2013 Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI)**, San Antonio, USA, 2013. 2. 22- 26.
 25. Suzuki Y, Masaki K, Kagawa S, Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Betsuyaku T, Amagai M, Asano K: Epicutaneous sensitization in filaggrin gene-depleted mouse induces prolonged airway eosinophilia without obvious dermatitis. **2013 Annual Meeting of**

- the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI), San Antonio, USA, 2013. 2. 22- 26.
26. Amagai M: The three musketeers of the epidermal barrier and cutaneous sensitization to external antigens. **The 23rd Annual Meeting of Korean Society for Investigative Dermatology**, Seoul, Korea, 2013. 3. 22- 23.

〈日本語発表〉

- 川崎洋, 永尾圭介, 久保亮治, 畑毅, 清水篤, 水野秀昭, 山田健人, 天谷雅行: フィラグリン欠損マウスにおける角層バリア機能異常と経皮免疫応答の亢進. 第19回分子皮膚科学フォーラム, 青森, 2012. 4. 13- 14.
- 加畑宏樹, 佐々木貴史, 坂巻文雄, 小山田吉孝, 井上卓, 小熊剛, 黄英文, 天谷雅行, 別役智子, 浅野浩一郎: フィラグリン遺伝子変異を合併した重症喘息症例の検討. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 2012. 4. 20- 22.
- 浅野浩一郎: シンポジウム「重症喘息の背景と治療戦略」重症喘息の分子病態. 第24回日本アレルギー学会春期臨床大会, 大阪, 2012. 5. 12- 13.
- 久保亮治: 三次元イメージングで出会う皮膚銀河の天の川. 第111回日本皮膚科学会総会, 京都, 2012. 6. 1- 3.
- 久保亮治: タイトジャンクションバリアと疾患. 第111回日本皮膚科学会総会, 京都, 2012. 6. 1- 3.
- 加藤則人: ウェットベンチだけが研究ではない! -疫学研究を生かしたアトピー診療. 教育講演「研究を目指す若手皮膚科医のために」. 第111回日本皮膚科学会総会, 京都, 2012. 6. 1- 3.
- 天谷雅行: 皮膚バリアとアトピー性疾患. 日本食品免疫学会第5回シンポジウム『未来の食品免疫学を考える-腸・皮膚・食品-』, 東京, 2012. 6. 7.
- 菅井基行: 黄色ブドウ球菌の病原性発現制御とバイオフィルム形成. 第26回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会, 吹田市, 2012. 7. 13.
- 加藤則人: アトピー性皮膚炎の治療: 最近の知見と患者の思い. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 軽井沢, 2012. 7. 13- 15.

- 天谷雅行: 皮膚バリア異常とアトピー性皮膚炎. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 軽井沢, 2012. 7. 13- 15.
- 吉田和恵, 横内麻里子, 石井健, 永尾圭介, 天谷雅行, 久保亮治: ヒト表皮におけるタイトジャンクションバリアの解析. 皮膚かたち研究学会, 東京, 2012. 7. 29.
- 久保亮治: Pros and Cons: バリア障害か炎症か: バリア障害か炎症か~バリア障害について. 第49回小児アレルギー学会, 大阪, 2012. 9. 15- 16.
- 久保亮治: アレルギー疾患発症因子としての皮膚バリア障害. 第49回小児アレルギー学会, 大阪, 2012. 9. 15- 16.
- 久保亮治: TOF-SIMSを用いた皮膚角質バリア構造の可視化. JST ERATO (末松ガスバイオロジープロジェクト) JSTさきがけ (炎症の慢性化機構の解明と制御) 慶應義塾大学医学部医化学教室 共同講演会: 質量分析で何が出来るか?-生命科学研究での有用性-, 東京, 2012. 9. 26.
- 川崎洋, 永尾圭介, 久保亮治, 畑毅, 清水篤, 水野秀昭, 山田健人, 天谷雅行: フィラグリン欠損マウスにおける角層バリア機能異常と経皮免疫応答の亢進. 第40回日本臨床免疫学会総会, 東京, 2012. 9. 27- 29.
- 浅野浩一郎: イブニングシンポジウム「炎症細胞のトピックス」好酸球と脂質メディエーター リピドミクス解析から明らかになったこと. 第51回日本鼻科学会総会・学術講演会, 千葉, 2012. 9. 27- 29.
- 加藤則人: 血小板由来の痒みのメディエーターアトピー性皮膚炎における役割. 第22回国際痒みシンポジウム, 2012. 10. 6.
- 佐々木貴史, 新関寛徳, 清水厚志, 塩濱愛子, 開山麻美, 奥山虎之, 敦仁 関, 椛島健治, 大塚篤司, 石河晃, 俊一 宮, 天谷雅行, 岡野栄之, 末松誠, 工藤純: 次世代シーケンサーを用いたエキソーム解析による肥厚性皮膚骨膜炎原因遺伝子 *SLCO2A1* の同定. 日本人類遺伝学会第57回大会, 東京, 2012. 10. 25- 27.
- 加藤則人: 治療のゴールを意識したアトピー性皮膚炎の治療. 第64回日本皮膚科学会西部支部学術大会, 広島, 2012. 10. 27- 28.

20. 天谷雅行: 皮膚バリアの三銃士とアトピー性疾患. 第12回茨城皮膚セミナー, つくば, 2012. 11. 1.
21. 久恒順三, 萩谷英大, 塩田澄子, 萱井基行: 全身播種した市中感染型MRSA感染症由来株の解析. 第32回広島感染症研究会, 広島市, 2012. 11. 10.
22. 天谷雅行: 皮膚バリア機能異常とアトピー性疾患. 中信皮膚科医学会学術講演会, 松本, 2012. 11. 15.
23. 久保亮治: 皮膚から全身へ ~免疫・アレルギー感作に関わる皮膚表面のバリア機構~. 第1回創薬イノベーション懇話会, 東京, 2012. 11. 26.
24. 天谷雅行: アトピー性皮膚炎の皮膚バリアからみた病態. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪, 2012. 11. 29- 12. 1.
25. 正木克宣, 鈴木雄介, 加川志津子, 樹神元博, 小熊剛, 加畑宏樹, 宮田純, 田中希宇人, 川崎洋, 永尾圭介, 久保亮治, 福永興壺, 別役智子, 天谷雅行, 浅野浩一郎: 経皮感作喘息マウスモデルの抗原感作時および暴露時におけるIL-23の役割. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪, 2012. 11. 29- 12. 1.
26. 笠井弘子, 北川絵里加, 川崎洋, 定平知江子, 櫻岡浩一, 渡辺賢治, 海老原全: 成人アトピー性皮膚炎患者に対するアトピー教室の有用性に関する検討. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪, 2012. 11. 29- 12. 1.
27. 鈴木雄介, 正木克宣, 加川志津子, 川崎洋, 永尾圭介, 久保亮治, 別役智子, 天谷雅行, 浅野浩一郎: 経皮感作によるマウス気道の好酸球性炎症はフィラグリン欠損により遷延する. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会, 大阪, 2012. 11. 29- 12. 1.

28. 天谷雅行: 皮膚バリア機能異常とアトピー性疾患. 第22回東京免疫フォーラム, 東京, 2013. 3. 14.

H. 知的財産権の出願・登録状況

《国際特許》

国際出願番号:PCT/JP2009/002161

(国際出願日:2009年5月15日)

基礎出願番号:特願2008-303926(出願日:2008/11/28)

国際公開番号:WO2009/139191(国際公開日:2011年4月14日)

米国特許出願番号:12/736, 800(登録日:2013年1月8日)

特許番号:US2011/0088103

特許出願日:2009年5月15日

国内段階移行日:2010年11月10日

出願人:Keio University

発明者: Masayuki Amagai, Akiharu Kubo,
Keisuke Nagao

発明の名称: Allergic Disease Model
Animals

《国内特許》

公開番号:WO2009/139191

(公開日:2009年11月19日)

優先権主張:特願2008-129597
(2008年5月16日)

特願2008-303926
(2008年11月28日)

出願人:学校法人慶應義塾

発明者: 天谷雅行、久保亮治、永尾圭介

発明の名称:アレルギー疾患モデル動物

II. 平成 24 年度分担研究報告

フィラグリン欠損皮膚と角層水分保持に関する検討

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 皮膚角層の主要な構成蛋白質であるフィラグリンの遺伝子変異が、アトピー性皮膚炎の主要な発症因子として注目されている。*in vivo*におけるフィラグリンの関与する皮膚バリア機能を詳細に検討し、アトピー性皮膚炎の発症機序を明らかにするため、フィラグリンノックアウト(KO)マウスを作成し研究を進めている。マウスは生後早期より体毛で覆われるが、皮膚表面の観察やフィラグリン欠損の角層水分保持への影響を解析する際、体毛の存在は支障になると考えられた。そこで、フィラグリンKOヘアレスマウスを作製し、皮膚表面の生理学的解析を行った。作製したフィラグリンKOヘアレスマウスの皮膚は、皮溝が深く鱗屑を伴い、尋常性魚鱗癬の外観に類似した。興味深いことに、6週齢以降のフィラグリンKOヘアレスマウスで、野生型マウスに比べ角層内水分量の減少を認めた。体毛等の保護がなくなるとフィラグリン欠損マウスでは角層内水分量の低下が進むことから、乾燥等の環境要因がフィラグリン欠損皮膚の角層内水分保持に影響する可能性が考えられた。

研究協力者
川崎 洋
日本予防医学協会リサーチ・レジデント

A. 研究目的

皮膚角層の主要な構成蛋白質であり、尋常性魚鱗癬の原因遺伝子であるフィラグリンの遺伝子変異が、アトピー性皮膚炎の主要な発症因子として注目されている。*in vivo*におけるフィラグリンの関与する皮膚バリア機能を詳細に検討し、アトピー性皮膚炎の発症機序を明らかにするため、フィラグリンノックアウト(KO)マウスを作成し研究を進めている。フィラグリンの分解産物は天然保湿因子として角層の水分保持に重要な役割を担い、角層のバリア機能維持に寄与すると考えられている。しかし、フィラグリン

ノックアウトマウスの皮膚はドライスキン様の外観を呈し、天然保湿因子量が減少していたにもかかわらず、角層内水分量や皮膚バリア機能の指標として汎用されている経皮水分蒸散量(trans epidermal water loss: TEWL)に異常を認めなかった。ヒトと異なり、マウスは体毛で皮膚が保護されており、フィラグリン欠損の角層水分保持への影響が生じにくくなっている可能性を考えた。そこでフィラグリンKOヘアレスマウスを作成し、その生理学的解析を行った。

B. 研究方法

1. フィラグリンKOヘアレスマウスの作成

フィラグリンKOマウスをHos:HR-1マウス(星野試験動物飼育所)と交配し、フィラグリンKOヘアレスマウス

を作成した。フィラグリン K0 ヘアレスマウスの外観を、レプリカを用いて詳細に観察した。

2. フィラグリン K0 ヘアレスマウスの角層内水分量と TEWL の測定

野生型ヘアレスマウスとフィラグリン K0 ヘアレスマウスの角層内水分量と TEWL を、標準湿度環境(湿度 40-60%)下で、それぞれ VAPOSCAN AS-VT100RS (Asahi Biomed), Corneometer ASA-M2 (Asahi Biomed) を用いて測定、評価した。

C. 研究結果

作成したフィラグリン K0 ヘアレスマウスの皮膚は、皮溝が深く鱗屑を伴い、尋常性魚鱗癬の外観に類似した。(図 1) 日齢 3-4 と 4 週齢のヘアレスマウスの角層内水分量を測定したところ、野生型とフィラグリン K0 ヘアレスマウス間で差異を認めなかった。しかし、6 週齢以降では、野生型に比べフィラグリン K0 ヘアレスマウスで角層内水分量の減少を観察した。(図 2, A) 一方、TEWL に関しては、観察期間全てに渡って野生型ヘアレスマウスとの間に差を認めなかった。(図 2, B)

D. 考察

親から離乳し、脱毛が終わる 6 週齢以降より、フィラグリン K0 ヘアレスマウスで角層内水分量の減少を観察した事実は、フィラグリン欠損は角層水分量の低下を導くが、毛で体表を覆われたり親の保護を受けたりする時期は、フィラグリン欠損があっても何らかの代償機構により、見かけ上角層水分量が維持された可能性を示唆する。また、体毛等の保護がなくなるとフィラグリン K0 マウスでは角層内水分量の低下が進むことから、乾燥等の環境要因がフィラグリン欠損皮膚の

角層内水分保持に影響する可能性が考えられた。一方、全観察期間でフィラグリン K0 ヘアレスマウスの TEWL 値に異常を観察しなかったことから、TEWL と角層水分量は必ずしも parallel に推移するパラメーターではないことがわかった。

E. 結論

フィラグリン欠損は、特定の環境下で角層水分量の低下を導く。フィラグリン K0 ヘアレスマウスは、*in vivo* においてフィラグリンと角層水分保持機構の解明に寄与する重要なツールとなる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表 (平成 24 年度)

論文発表

英語論文

1. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, **Amagai M**: Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. **J Allergy Clin Immunol.** 129(6):1538-1546, 2012

日本語総説

1. 川崎 洋, 天谷雅行: フィラグリン欠損による角層バリア障害とアトピー性皮膚炎. **臨床免疫・アレルギー科**, 59 巻 3 号. 2013 年. p. 153-159.

学会発表

1. 川崎 洋, 永尾圭介, 久保亮治, 畑 毅, 清水 篤, 水野秀昭, 山田健人, 天谷雅行: フィラグリン欠損マウスにおける角層バリア機能異常と経皮免疫応答の亢進. 第 40 回日本臨床免疫学会総会

Midwinter seminar workshop, 東京. 2012年. 9月.

2. 川崎 洋, 永尾圭介, 久保亮治, 畑 毅, 清水 篤, 水野秀昭, 山田 健人, 天谷雅行: フィラグリ
ン欠損マウスにおける角層バリア機能異常と経皮免疫応答の亢進. 第19回分子皮膚科学フォーラム, 青森. 2012年. 4月.

H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

《国際特許》

国際出願番号:PCT/JP2009/002161 (国際出願日:2009年5月15日)

基礎出願番号:特願2008-303926 (出願日:2008/11/28)

国際公開番号:W02009/139191 (国際公開日:2011年4月14日)

米国特許出願番号:12/736,800 (登録日:2013年1月8日)

特許番号:US2011/0088103

特許出願日:2009年5月15日

国内段階移行日:2010年11月10日

出願人:Keio University

発明者:Masayuki Amagai, Akiharu Kubo, Keisuke Nagao

発明の名称: Allergic Disease Model Animals

《国内特許》

公開番号:W02009/139191

(公開日:2009年11月19日)

優先権主張:特願2008-129597 (2008年5月16日)

特願2008-303926 (2008年11月28日)

出願人:学校法人慶應義塾

発明者:天谷雅行、久保亮治、永尾圭介

発明の名称: アレルギー疾患モデル動物

野生型ヘアレスマウス

フィラグリン K0ヘアレスマウス

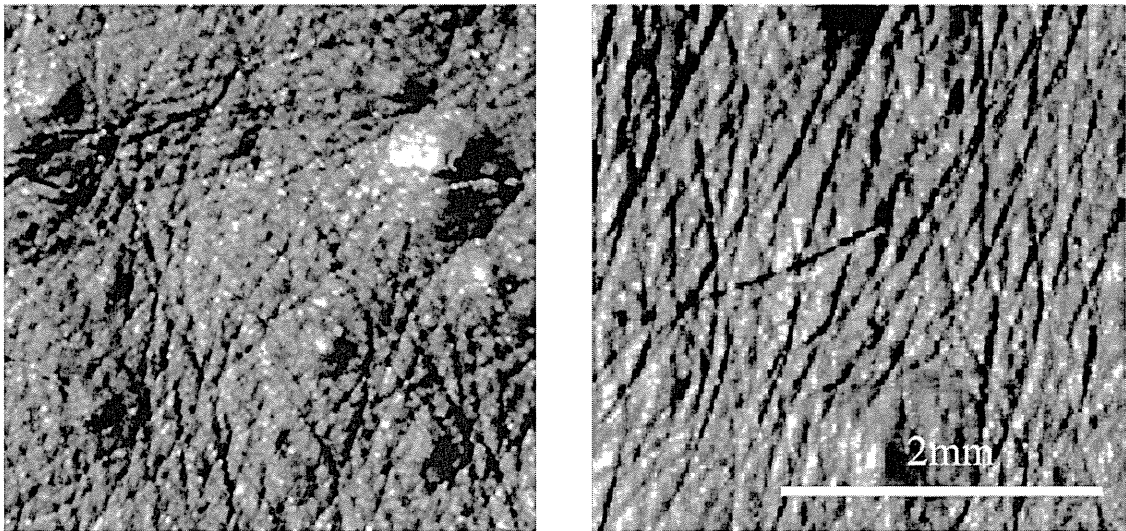


図1 フィラグリン K0ヘアレスマウスのレプリカイメージ
ヘアレスマウスの表面からレプリカを採取し、イメージ化した画像。フィラグリン K0ヘアレスマウスは、皮野が広く、皮溝が深い特徴を有する。

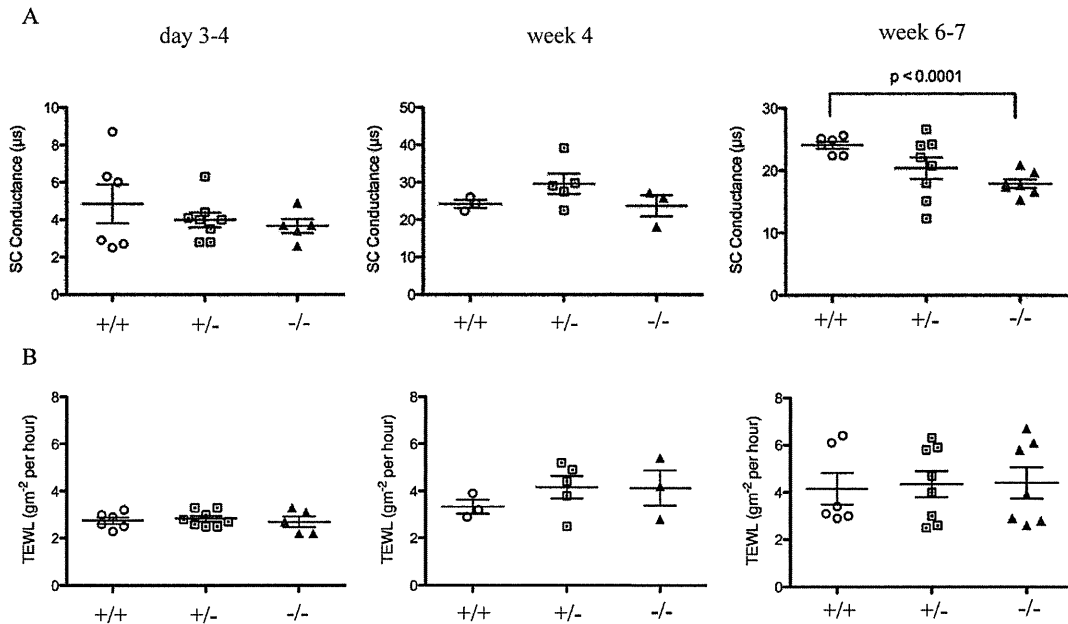


図2 野生型ヘアレスマウスとフィラグリン K0ヘアレスマウスの角層内水分量と TEWL 値の比較

通常飼育環境下で測定した、日齢 3-4、週齢 4、週齢 6-7 それぞれの角層内水分量(A)と TEWL 値(B)。+/+, 野生型ヘアレスマウス; +/-, ヘテロ型ヘアレスマウス; -/-, フィラグリン K0ヘアレスマウス。

表皮バリア機能障害・経皮感作による喘息重症化と IL-23/Th17 応答

研究分担者 浅野浩一郎 東海大学医学部内科学系呼吸器内科 教授

研究要旨

昨年までの研究でフィラグリン欠損による表皮バリア機能障害が気道における好酸球性炎症を悪化させることが明らかとなった。またその増悪の機序には、経皮感作時に生ずる皮膚局所の IL-23 や肺を含む全身性の Th17 細胞の関与が示唆された。そこで経皮感作喘息モデルマウスを用いて IL-23 の中和抗体の効果を検討した。抗 IL-23 抗体による好酸球性気道炎症の抑制は感作時に抗体を投与した時にみられ、気道曝露時のみに抗体を投与すると気道過敏性がむしろ亢進した。感作時・気道曝露時に投与すると効果は相殺された。これらの結果から、経皮感作に伴い生ずる皮膚局所の IL-23 産生が皮膚バリア障害で増強し、喘息悪化に重要であることが示唆された。

研究協力者

鈴木 雄介
慶應義塾大学医学部呼吸器内科
特任講師
正木 克宜
慶應義塾大学医学部大学院生

などの Th17 系の炎症の関与を示唆する結果を得た。今回さらにその詳細な機序について検討を行った。

A. 研究目的

重症のアトピー性皮膚炎を発症した乳幼児が喘息を併発した場合、しばしば気道炎症の難治化をきたし最終的にはリモデリングによる不可逆性気流閉塞にいたることが多い。これは経皮的な抗原感作が気道病変の病態に影響する可能性を示唆している。実際、皮膚バリア機構を司るフィラグリンの遺伝子異常がある場合、喘息とアトピー性皮膚炎を伴うことが多いとの疫学的データがある。

我々はダニ抗原の軟膏塗布により、物理的な皮膚障害なしでも気道炎症をきたすモデルを作成し、それを用いて遺伝的な皮膚バリア機能低下（フィラグリン欠損）が気道の喘息様症状を悪化させることを示し、IL-23、IL-17A

B. 研究方法

主任研究者の天谷らが開発したフィラグリン遺伝子欠損マウスあるいは野生型 C57BL/6 マウスの耳介にダニ抽出抗原軟膏を週 2 回 3 週間塗布した後、同抗原溶液の点鼻吸入を 2 回行った。抗体を用いる実験では IL-23 ノックアウトマウスを用いた実験で変化を認めたモデルを採用した。マウスを感作させるために卵白アルブミン (OVA) を浸み込ませたパッチを週 1 回 3 日間 3 週間貼付した後、同抗原溶液のネブライザー吸入を 4 日連続で行った。抗体投与はパッチ貼付の前後とネブライザー吸入前に行った。曝露終了後 4 から 14 日目に気道過敏性、気道炎症や抗体産生を評価した。

C. 研究結果

ダニ抗原軟膏を用いたモデルにおいてフィラグリン欠損マウスの肺に