



図3 Haloplex ライブラリーの評価

表 1 日本人 AD 患者集団の FLG 変異解析

	慶應大			
	AD		Control	
R501X	0/240		1	(1.0%)
3321delA	4/240	(1.7%)	0	
S1695X	0/240		-	
Q1701X	3/240	(1.3%)	1	(1.0%)
S2554X	2/240	(0.8%)	2	(1.9%)
S2889X	8/240	(3.3%)	1	(1.0%)
S3296X	6/240	(2.5%)	1	(1.0%)
K4022X	5/240	(2.1%)	2	(1.9%)
	27/240	(11.3%)	8/105	(7.6%)
	(1 compound hetero)			

表 2 rs3740778 の日本人多型解析の結果

AD			con.		
A/A	23	9.8%	A/A	9	10.7%
G/A	116	49.6%	G/A	37	44.0%
G/G	95	40.6%	G/G	38	45.2%
total	237		total	84	
allele A		34.2%	allele A		32.7%
allele G		64.6%	allele G		67.3%

表3 次世代シーケンサー解析結果

	Total reads	on target reads	Av. coverage
AD055	585991	219654	22.0
AD058	886850	343546	34.3
AD062	823784	356788	35.4
AD074	650498	340316	34.5
AD108	623471	309920	30.4
AD155	585991	347088	32.5

表4 変異解析結果

	chr.	Location	gene	mutation	zygosity	chr.	SIFT (mutationのシビアさの予測)
KOAD055	chrX	117874982	IL13RA1	T31A	heterozygote	Xq24	0.50
	chr1	153233748	LOR	G108A	heterozygote	1q21	time out error
KOAD058	chr10	5005681	AKR1C1	F15L	heterozygote	10p15	0.70
	chr11	117869638	IL10RA	P340R	heterozygote	11q23	0.11
	chr1	154401804	IL6R	R73T	heterozygote	1q22	0.36
KOAD062	chr5	38921801	OSMR	Y557C	heterozygote	5p13	0.00
	chr11	65744142	SART1	E588K	heterozygote	11q13	1.00
	chr16	31368604	ITGAX	G117W	heterozygote	16p11	0.01
	chr1	152283700	FLG	R1221H	heterozygote	1q21	time out error
KOAD074	chr3	9974903	IL17RC	V565L	heterozygote	3p25	0.31
	chr11	7985018	NLRP10	P9T	heterozygote	11p15	0.00
	chr19	14157021	IL27RA	R275H	heterozygote	19p13	0.17
	chr2	70188262	ASPRV1	V187I	heterozygote	2p13	0.20
KOAD108	chr11	117870150	IL10RA	A511T	heterozygote	11q23	0.64
	chr11	130067759	ST14	R460G	heterozygote	11q24	0.52
	chr1	153233748	LOR	G108A	homozygote	1q21	time out error
	chr3	9945784	IL17RE	V113L	heterozygote	3p25	0.96
KOAD155	chr3	112357383	CCDC80	A457V	heterozygote	3q13	0.29
	chr4	123854605	SPATA5	M153T	heterozygote	4q28	0.59
	chr17	4637946	CXCL16	D259E	heterozygote	17p13	0.10

## 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

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教授

### 研究要旨

京都府山間部の一小・中学校の全児童・生徒を対象として、皮膚検診、喘息、アレルギー性鼻炎に関する質問票調査、血清総 IgE 値やダニ・スギ特異 IgE 値の検討を行い、乾燥皮膚と血清 IgE 値の関係について解析した。小中学生およびその保護者には 4 年前に皮膚の乾燥を防ぐ入浴法や生活習慣に関する教育介入を行っている。また、皮膚のバリア機能がアレルギー・マーチに関係する表皮角化細胞のサイトカイン産生におよぼす影響をテープストリッピング法で検討した。その結果、小中学生のアトピー性皮膚炎、乾燥皮膚、喘息、アレルギー性鼻炎の有病率は、十数年前からの検診結果と同じ程度であったが、血清総 IgE 値、ダニ特異 IgE 値は、皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣に関する教育介入を行う前と比して低下してきている傾向がみられ、生活習慣と環境中のアレルゲンに対する経皮感作の関連が示唆された。また、アトピー性皮膚炎患者において、角層中の TSLP の発現が皮膚の乾燥に伴って増加したことから、皮膚のバリア機能の低下は Th2 の誘導に重要な TSLP の発現と密接に関連すると考えられるとともに、今後アレルギーマーチを予見する方法として角層中の TSLP 発現を評価する方法が有用な可能性が示唆された。

### 研究協力者

若森健 (京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学研修員)  
益田浩司 (京都府立医科大学大学院医学研究科皮膚科学講師)

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、皮膚の乾燥を防ぐ適切な生活習慣と保湿のスキンケアの方法を、小中学生や乳幼児の保護者に指導して実践を促すことによって、アレルギー・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、皮膚のバリア機能とアトピー疾患の発症に関係するサイトカインの角層中での発現との関係を検討し、皮膚の乾燥とアレルギー・マーチの関連を実証することを目的とする。

### 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

### 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。小中学生およびその保護者には4年前に皮膚の乾燥を防ぐ入浴法や生活習慣に関する教育介入を行っている。

さらに、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を、本自治体で行われる乳幼児検診に参加した保護者すべてに継続して行う。

さらに、アトピー性皮膚炎患者の角層をテープストリッピングで採取し、蛍光抗体法で TSLP の発現を半定量的に測定し、バリア機能に関する計測値との関連を解析するとともに、保湿のスキンケアが角層中 TSLP におよぼす影響を検討する。

### C. 研究結果

小中学生のアトピー性皮膚炎、乾燥皮膚、喘息、アレルギー性鼻炎の有病率は、十数年前からの検診結果と同じ程度であった。一方で、血清総 IgE 値、ダニ特異 IgE 値は、皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣に関する教育介入を行う前と比して低下してきている傾向がみられた。

また、4年前から同自治体で出生した乳児と幼児を対象に皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣に関する個別指導を継続して行った。

アトピー性皮膚炎患者の角層中 TSLP 発現量は健康皮膚のものより高かった。角層 TSLP の発現と皮疹構成要素との関連を検討したところ、角層 TSLP は「皮膚の乾燥」と相関を示した。角層 TSLP は、角質水分量と逆相関し、経皮水分蒸散量と相関を示し、表皮バ

リア機能の傷害の程度と関連して増加することが明らかになった。また、アトピー性皮膚炎患者への保湿外用剤の外用によって角層 TSLP の発現が低下した。

### D. 考察

この数年、小中学生のアトピー性皮膚炎患児における血清 IgE 値やダニ特異 IgE 値が低下しており、彼らとその保護者に行った適切な入浴法・暖房法および保湿スキンケアの方法に関して行った教育の効果があらわれている可能性が考えられた。われわれは4年前から同町内で出生した乳幼児検診に参加する保護者全員を対象に皮膚の乾燥を防ぐ生活習慣に関する教育を行っており、これらの教育を受けた乳幼児のアトピー性皮膚炎や乾燥皮膚、喘息や花粉症の発症率や血清総 IgE 値やダニ、スギ特異 IgE 値が減少していくかを長期間継続して検討していくことで、乾燥を防ぐ生活習慣のアレルギーマーチに対する予防効果を解析することが重要と考えた。

また、テープストリッピングという非侵襲的な方法で角層中の TSLP を多数の被験者を対象に検討した結果、皮膚の乾燥に伴って TSLP の発現が増加したことから、皮膚のバリア機能の低下は Th2 の誘導に重要な TSLP の発現と密接に関連することが示唆されるとともに、今後アレルギーマーチを予見する方法として角層中の TSLP 発現を評価する方法が有用な可能性が示唆された。

### E. 結論

小児とその保護者に対して適切な入浴法・暖房法および保湿スキンケアの方法に関して行うことは、皮膚の乾燥を防いでアレルギーに対する経皮

感作に対して予防的に作用する可能性が示唆された。

また、角層中の TSLP 発現量が皮膚の乾燥と関連して増加することから、皮膚の乾燥は抗原の侵入を容易にするだけでなくアレルギー反応を惹起する微小環境を形成することによってアレルギーマーチの進展に関与していることが推測された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表（平成 22～24 年度） 論文発表

1. 峠岡理沙、加藤則人. アトピー性皮膚炎の病態形成における血小板の役割. 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌 (印刷中)
2. 加藤則人. アトピー性皮膚炎に対する外用療法の新展開. 臨床免疫・アレルギー科 (印刷中).
3. 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 65 (5 増): 140-142, 2011.
4. 加藤則人. 皮膚科軟膏処置 免疫抑制外用薬の使い方. 皮膚病診療 (増) 33: 22-27, 2011.
5. 加藤則人. ズック靴皮膚炎とアトピー性皮膚炎. 特集: アトピー性皮膚炎: 表皮の時代 Visual Dermatology 10(12); 1262-1263, 2011
6. 加藤則人. 金属と接触皮膚炎. 皮膚科セミナー. 日皮会誌 121: 2049-2052, 2011.
7. 峠岡理沙、加藤則人. アトピー性皮膚炎における血小板の役割. 日本血栓学会誌 22: 77-80, 2011.
8. 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.
9. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の内服療法. 特集. アトピー性皮膚炎の正しい治療. 医薬ジャーナル. 46: 986-989, 2010.
10. 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 2010: 9-10, 2010.
11. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の根本治療. Topics in Atopy 9: 26-30, 2010.
12. 加藤則人. 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: 69-72, 2010.
13. 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: 22-23, 2010.
14. 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.
15. 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. Clin Exp Immunol (in press)
16. Kotani, H, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Soga, F, Nin M, Asai, J, Kishimoto S, Katoh N. Increased plasma LIGHT levels in patients with atopic dermatitis. Clin Exp Immunol 168: 318-24, 2012.
17. Tamagawa-Mineoka R, Kishida T, Mazda O, Katoh N. IL-21 reduces immediate hypersensitivity reactions in mouse skin by suppressing mast cell activation or IgE production. J Invest Dermatol 131: 1513-20, 2011.
18. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Kishimoto S. Platelet activation in

psoriatic patients: increased plasma levels of platelet-derived microparticles and soluble P-selectin. *J Am Acad Dermatol* 62: 621-626, 2010.

#### 学会発表

1. 加藤則人. 外用療法の新展開: プロアクティブ療法. シンポジウム アトピー性皮膚炎治療の新展開. 第24回日本アレルギー学会春期臨床大会. 2011. 5. 1
2. 峠岡理沙, 益田浩司, 加藤則人. 成人アトピー性皮膚炎および蕁麻疹患者における血清 IL-33 の検討. ミニシンポジウム: アトピー性皮膚炎. 第24回日本アレルギー学会春期臨床大会. 2011. 5. 11.
3. 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.
4. 加藤則人. 小児アトピー性皮膚炎のアドヒアランスを高めるコミュニケーションスキル. 第24回日本アレルギー学会春期臨床大会. 2011. 5. 12.
5. 加藤則人. 日常診療の要点-整形外科医が知っておくべき皮膚疾患-. 第85回日本整形外科学会学術総会. 2012. 5. 20.
6. 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. 2012. 6. 1.
7. 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. イブニングセミナー. アトピー性皮膚炎の最新治療. 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. 2012. 7. 14.
8. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療. イブニングセミナー. 第64回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 2012. 10. 25.
9. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療効果を高めるコミュニケーションのコツ. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会ランチョンセミナー. 2011. 7. 17.
10. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療のゴールと抗ヒスタミン薬の役割. 日本皮膚科学会中部支部学術大会ランチョンセミナー. 2011. 11. 19.
11. 加藤則人. アトピー性皮膚炎. 2011. 第23回日本アレルギー学会春期臨床大会. 臨床アップデート Allergy: Year in review. 2011. 5. 14.
12. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の病態と血小板. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. シンポジウム アトピー性皮膚炎 Update. 2011. 7. 17.
13. 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. 第109回日本皮膚科学会総会. 教育講演. 2010. 4. 16.
14. 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. 2010. 9. 10.
15. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の疫学-予後を中心に-. 第22回日本アレルギー学会春期臨床大会. シンポジウム アレルギー性疾患の疫学. 2010. 5. 9.
16. 加藤則人. 小児アトピー性皮膚炎の疫学. 第22回日本アレルギー学会春期臨床大会. シンポジウム 小児のアトピー性皮膚炎. 2010. 5. 8.
17. Sano Y, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Murakami Y, Matsunaka H, Morita E, Kato H. Thymic stromal lymphopoietin is increased in the horny layer in patients with atopic dermatitis. The 37rd Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermato-

- logy. 2012.12.8.
18. Wakamori T, Masuda K, Katoh N. Season of birth and atopic dermatitis. 22nd World Congress of Dermatology. 2011.5.25.
  19. Katoh N, Tamagawa-Mineoka R, Kotani H, Masuda K. Platelets are activated in circulation of patients with atopic dermatitis. 6th International Symposium on Atopic Dermatitis. 2010. Munich Germany, 2010.7.22.

H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

なし



### 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
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	<b>J Dermatol Sci</b>	61	144-147	2010
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	<b>J Antimicrob Chemother</b>	65	1536-1537	2010
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	<b>FEMS Microbiol Lett</b>	312	169-175	2010
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	<b>Am J Pathol</b>	176	2385-2393	2010
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	<b>Int Immunopharmacol</b>	10	540-545	2010
Nakai N, Hartmann G, Kishimoto S, Katoh N	Dendritic cell vaccination in human melanoma: relationships between clinical effects and vaccine parameters	<b>Pigment Cell Melanoma Res</b>	23	607-619	2010
Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Kishimoto S	Platelet activation in patients with psoriasis: increased plasma levels of platelet-derived microparticles and soluble P-selectin	<b>J Am Acad Dermatol</b>	62	621-626	2010
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	<b>Int Arch Allergy Immunol</b>	152 Suppl 1	67-74	2010
Pilszczek 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	<b>J Immunol</b>	185	7413-7425	2010
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	<b>Microbiology</b>	156	860-872	2010
Suzuki Y, Kodama M, Asano K	Skin barrier-related molecules and pathophysiology of asthma	<b>Allergol Int</b>	60	11-15	2011

Kato F, Kadomoto N, Iwamoto Y, Bunai K, Komatsuzawa H, <u>Sugai M</u>	Regulatory Mechanism for Exfoliative Toxin Production in <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Infect Immun</b>	79	1660-1670	2011
Kawasaki H, <u>Kubo A</u> , Sasaki T, <u>Amagai M</u>	Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis	<b>Curr Probl Dermatol</b>	41	35-46	2011
Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, <u>Amagai M</u> , 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	<b>J Dermatol</b>	38	353-363	2011
Mizumachi E, Kato F, Hisatsune J, Tsuruda K, Uehara Y, Seo H, <u>Sugai M</u>	Clonal distribution of enterotoxigenic <i>Staphylococcus aureus</i> on handles of handheld shopping baskets in supermarkets	<b>J Appl Microbiol</b>	110	562-567	2011
Mihara K, Shindo H, Ohtani M, Nagasaki K, Nakashima R, <u>Katoh N</u> , Kishimoto S.	Early depth assessment of local burns by videomicroscopy -24 hr after injury is a critical time point-.	<b>Burns</b>	37 (6)	986-993	2011
Kawasaki H, <u>Kubo A</u> , Sasaki T, <u>Amagai M</u> .	Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis	<b>Curr Probl Dermatol</b>	41	35-46	2011
Matsui T, Miyamoto K, <u>Kubo A</u> , Kawasaki H, <u>Ebihara T</u> , Hata K, Tanahashi S, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, <u>Kudoh J</u> , <u>Amagai M</u> .	SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing.	<b>EMBO Mol Med</b>	3 (6)	320-333	2011
Kagawa S, Fukunaga K, Oguma T, Suzuki Y, Shiomi T, Sayama K, Kimura T, Hirai H, Nagata K, Nakamura M, <u>Asano K</u> .	Role of prostaglandin D2 receptor CRTH2 in sustained eosinophil accumulation in the airways of mice with chronic asthma	<b>Int Arch Allergy Immunol</b>	155 (Suppl 1)	6-11	2011
Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, <u>Amagai M</u> , 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	<b>J Dermatol</b>	38 (4)	310-320	2011
Ouchi T, <u>Kubo A</u> , Yokouchi M, Adachi T, Kobayashi T, Kitashima DY, Fujii H, Clausen BE, Koyasu S, <u>Amagai M</u> , Nagao K.	Langerhans cell antigen capture through tight junctions confers preemptive immunity in experimental staphylococcal scalded skin syndrome.	<b>J Exp Med</b>	208 (13)	2607-2613	2011
Oguma T, <u>Asano K</u> , Tomomatsu K, Kodama M, Fukunaga K, Shiomi T, Ohmori N, Ueda S, Takihara T, Shiraishi Y, Sayama K, Kagawa S, Natori Y, Lilly CM, Satoh K, Makimura K, Ishizaka A.	Induction of mucin and MUC5AC expression by the protease activity of <i>Aspergillus fumigatus</i> in airway epithelial cells	<b>J Immunol</b>	187 (2)	999-1005	2011
Tamagawa-Mineoka R, Kishida T, Mazda O, <u>Katoh N</u> .	IL-21 reduces immediate hypersensitivity reactions in mouse skin by suppressing mast cell activation or IgE production.	<b>J Invest Dermatol</b>	131	1513-1520	2011

Hirota T, Saeki H, Tomita K, Tanaka S, Ebe K, Sakashita M, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Sasaki T, <u>Ebihara T</u> , <u>Amagai M</u> , Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Noguchi E, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M, Tamari M.	Variants of C-C Motif Chemokine 22 (CCL22) Are Associated with Susceptibility to Atopic Dermatitis: Case-Control Studies	<b>PLoS One</b>	6 (11)	e26987	2011
Mihara K, Shindo H, Mihara H, Ohtani M, Nagasaki K, <u>Katoh N</u> .	Early depth assessment of local burns by videomicroscopy: novel proposed classification.	<b>Burns</b>	38 (3)	371-377	2012
<u>Kubo A</u> , <u>Nagao K</u> , <u>Amagai M</u> .	Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases.	<b>J Clin Invest</b>	122 (2)	440-447	2012
Nishimura Y, Ii M, Qin, G, Hamada H, Asai J, Takenaka H, Sekiguchi H, Renault MA, Jujo, K, <u>Katoh N</u> , Kishimoto S, Ito A, Kamide C, Kenny J, Millay M, Misener S, Thorne T, Losordo DW.	CXCR4 antagonist AMD3100 accelerates impaired wound healing in diabetic mice.	<b>J Invest Dermatol</b>	132	711-720	2012
Kayama S, Shigemoto N, Kuwahara R, Onodera M, Yokozaki M, Ohge H, Kato F, Hisatsune J, <u>Sugai M</u>	Rapid detection of blaIMP-6 by amplification refractory mutation system	<b>J Microbiol Methods</b>	88 (1)	182-184	2012
Shigemoto N, Kuwahara R, Kayama S, Shimizu W, Onodera M, Yokozaki M, Hisatsune J, Kato F, Ohge H, <u>Sugai M</u>	Emergence in Japan of an imipenem-susceptible, meropenem-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> carrying blaIMP-6	<b>Diagn Microbiol Infect Dis</b>	72 (1)	109-112	2012
Sandilands A, Brown SJ, Goh CS, Pohler E, Wilson NJ, Campbell LE, Miyamoto K, <u>Kubo A</u> , Irvine AD, Thawer-Esmail F, Munro CS, McLean WH, <u>Kudoh J</u> , <u>Amagai M</u> , <u>Matsui T</u>	Mutations in the SASPase gene (ASPRV1) are not associated with atopic eczema or clinically dry skin	<b>J Invest Dermatol</b>	132 (5)	1507-1510	2012
Kawasaki H, <u>Nagao K</u> , <u>Kubo A</u> , Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, <u>Amagai M</u>	Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice	<b>J Allergy Clin Immunol</b>	129 (6)	1538-1546	2012
Kotani H, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Nomiya T, Soga F, Nin M, Asai J, Kishimoto S, <u>Katoh N</u>	Increased plasma LIGHT levels in patients with atopic dermatitis	<b>Clin Exp Immunol</b>	168 (3)	318-324	2012
<u>Nagao K</u> , Kobayashi T, Moro K, Ohyama M, Adachi T, Kitashima DY, Ueha S, Horiuchi K, Tanizaki H, Kabashima K, <u>Kubo A</u> , Cho YH, Clausen BE, Matsushima K, Suematsu M, Furtado GC, Lira SA, Farber JM, Udey MC, <u>Amagai M</u>	Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin	<b>Nat Immunol</b>	13 (8)	744-752	2012

Nagao K, Kobayashi T, Ohyama M, Akiyama H, Horiuchi K, <u>Amagai M</u>	Requirement of TACE/ADAM17 for Hair Follicle Bulge Niche Establishment	<b>Stem Cells</b>	30 (8)	1781-1785	2012
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, <u>Amagai M</u> , Okano H, Suematsu M, <u>Kudoh J</u>	Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis	<b>J Dermatol Sci</b>	68 (1)	36-44	2012
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, <u>Ebihara T</u> , <u>Amagai M</u> , Takeuchi S, Furue M, Nakamura Y, Tamari M	Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population	<b>Nat Genet</b>	44 (11)	1222-1226	2012
<u>Kubo A</u> , <u>Nagao K</u> , <u>Amagai M</u>	3D visualization of epidermal langerhans cells	<b>Methods Mol Biol</b>	961	119-127	2013
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, <u>Asano K</u>	Dysregulated synthesis of protectin D1 in eosinophils from patients with severe asthma	<b>J Allergy Clin Immunol</b>	131 (2)	353-360 e351-352	2013
Sano Y, Masuda K, Tamagawa-Mineoka R, Matsunaka H, Murakami Y, Yamashita R, Morita E, <u>Katoh N</u>	Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in the horny layer of patients with atopic dermatitis	<b>Clin Exp Immunol</b>	171 (3)	330-337	2013
Kanda S, Sasaki T, Shiohama A, Nishifuji K, <u>Amagai M</u> , Iwasaki T, <u>Kudoh J</u>	Characterization of canine filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin	<b>Vet Dermatol</b>	24 (1)	25-31 e27	2013
Furusho H, Miyauchi M, Hyogo H, Inubushi T, Ao M, Ouhara K, Hisatune J, Kurihara H, <u>Sugai M</u> , 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	<b>J Gastroenterol</b>	Epub ahead of print		2013
Sugawara T, Iwamoto N, Akashi M, Kojima T, Hisatsune J, <u>Sugai M</u> , Furuse M	Tight junction dysfunction in the stratum granulosum leads to aberrant stratum corneum barrier function in claudin-1-deficient mice	<b>J Dermatol Sci</b>	Epub ahead of print		2013
Yoshida K, Yokouchi M, <u>Nagao K</u> , Ishii K, <u>Amagai M</u> , <u>Kubo A</u>	Functional tight junction barrier localizes in the second layer of the stratum granulosum of human epidermis	<b>J Dermatol Sci</b>	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
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	22-23	2010
久保亮治, 天谷雅行	皮膚バリア研究の新展開	FRAGRANCE JOURNAL	38	14-18	2010
浅野浩一郎	重症喘息の病型	IgE practice in asthma	4	27-29	2010
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
加藤則人	アトピー性皮膚炎の根本治療	Topics in Atopy	9	26-30	2010
浅野浩一郎	遺伝素因	アレルギー・免疫	17	1996-2002	2010
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	1017-1020	2010
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	986-989	2010
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
浅野浩一郎	喘息に対する分子標的治療	呼吸と循環	58	987-993	2010
益田浩司, 加藤則人	小児皮膚疾患 汗の異常	小児科	51	676-677	2010
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	174-178	2010
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	701-709	2010
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	4-13	2011
浅野浩一郎	気管支喘息の遺伝素因 up to date	呼吸	30	20-24	2011
松井 毅	脊椎動物陸上進出の謎と美容ー表皮顆粒層に特異的に発現するレトロウイルス様アスパラギン酸プロテアーゼ SASPaseの研究を通してー	The Journal of Japanese Society of Aesthetic Dermatology	21(4)	277-287	2011
加畑宏樹, 浅野浩一郎	気管支喘息の病態、診断と治療 最近の進歩ー長期管理薬による段階的治療ー	救急医学	35 (5)	587-591	2011
鈴木雄介, 浅野浩一郎	妊娠中の気管支喘息の管理	周産期医学	41 (5)	595-598	2011
浅野浩一郎	喘息における気道炎症の役割	日本医師会雑誌	140 (3)	497-500	2011
浅野浩一郎	気管支平滑筋気管支平滑筋細胞と喘息ー気道リモデリングとの関連を中心にー	臨床免疫・アレルギー科	56 (2)	166-170	2011
浅野浩一郎	アレルギー疾患におけるファーマコジェネティクスの現況	アレルギー・免疫	18 (9)	1339-1344	2011
浅野浩一郎	これからの喘息治療	医学のあゆみ	239 (4)	296-299	2011
加藤則人	特集:アトピー性皮膚炎:表皮の時代. ズック靴皮膚炎とアトピー性皮膚炎	Visual Dermatology	10 (12)	1262-1263	2011
佐々木貴史, 天谷雅行	アトピー性皮膚炎のゲノム解析の現況	アレルギー・免疫	18 (9)	1322-1329	2011
加藤則人	金属と接触皮膚炎	日本皮膚科学会雑誌	121	2049-2052	2011
加藤則人	皮膚科軟膏処置 免疫抑制外用薬の使い方	皮膚病診療	33	22-27	2011
久保亮治, 天谷雅行	皮膚バリア機構の新しい理解ー体表面における防御と索敵のメカニズムー	ヒューマンサイエンス	22	14-18	2011
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	29 (10)	1634-164	2011
佐々木貴史, 天谷雅行	アレルギー性皮膚疾患とバリア機能異常	小児科	52 (6)	833-841	2011

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	神奈川医学会雑誌	38 (1)	58-59	2011
嶋岡理沙, 加藤則人	アトピー性皮膚炎における血小板の役割	日本血栓学会誌	22	77-80	2011
天谷雅行	環境と皮膚免疫 フィラグリンと皮膚バリア機能	日本化粧品学会誌	35 (4)	318-319	2011
久保亮治	皮膚バリア構造・機能の可視化への挑戦	日本皮膚科学会雑誌・臨時増刊号	121 (13)	2920-2922	2011
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	皮膚の科学 (Suppl.16)	10	5-10	2011
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	65 (5)	140-142	2011
久保亮治, 天谷雅行	皮膚バリア機能異常と抗原感作	アレルギー・免疫	19 (1)	32-39	2012
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
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
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
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
天谷雅行	(病態・治療 Q&A) 皮膚バリアについてお教えください	臨床のあゆみ	94	7-8	2012
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
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
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

## 英語書籍

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
Kawasaki H, Kubo A, Sasaki T, Amagai M	Loss-of-function mutations within the filaggrin gene and atopic dermatitis	Shiohara, T.	<b>Pathogenesis and Management of Atopic Dermatitis</b>	Karger	Tokyo	35-46	2011
Matsui T	Endogenous Retroviral-Like Aspartic Protease, SASPase as a Key Modulator of Skin Moisturization	Lodén, M Maibach, HI	<b>Treatment of Dry Skin Syndrome -The Art and Science of Moisturizers-</b>	Springer Berlin Heidelberg	Berlin	179-192	2012

## 日本語書籍

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
菅井基行	耐性黄色ブドウ球菌：医療関連感染型 MRSA/市中感染型 MRSA	一山智、山口恵三監修 飯沼由嗣、館田一博編	感染症診療の基礎と臨床 ～耐性菌の制御に向けて～	医薬ジャーナル社	東京	91-98	2010
小松澤均、菅井基行	メチシリン耐性に関する機序	河野茂	MRSA-基礎・臨床・対策-改訂版	医薬ジャーナル社	東京	50-57	2010

浅野浩一郎	難治性喘息の臨床像をみる	大田健	抗体医療時代の気管支喘息治療の新たなストラテジー	先端医学社	東京	112-116	2011
浅野浩一郎	気管支喘息	山口徹、北原光夫、井次矢	今日の治療指針 2011 版 -私はこう治療している	医学書院	東京	287-289	2011
加藤則人	アトピー性皮膚炎	山口徹、北原光夫、井次矢	今日の治療指針 2011 年版 -私はこう治療している	医学書院	東京	1016-1018	2011
加藤則人	貨幣状湿疹・自家感受性皮膚炎の病態・診断・鑑別	中村晃一郎	皮膚科臨床アセッサー第1巻 「アトピー性皮膚炎 -湿疹・皮膚炎パーフェクトマスター」	中山書店	東京	148-152	2011
加藤則人	貨幣状湿疹・自家感受性皮膚炎の治療と生活指導	中村晃一郎	皮膚科臨床アセッサー第1巻 「アトピー性皮膚炎 -湿疹・皮膚炎パーフェクトマスター」	中山書店	東京	153-155	2011
加藤則人	アレルギー性皮膚疾患. 毛染めによる接触皮膚炎.	宮地良樹	皮膚科診療最前線シリーズ 外来皮膚科 ER 最前線	メディカルレビュー社	東京	186-189	2011
加藤則人	血栓性静脈炎	瀧川雅浩, 渡辺晋一	皮膚疾患最新の治療 2010-2011	南江堂	東京	78	2011
加藤則人	ドライスキンとかゆみ	宮地良樹	臨床医必携 - 全身とかゆみ	診断と治療社	東京	35-36	2011
加藤則人	手湿疹	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	今日の皮膚疾患治療指針. 第4版	医学書院	東京	293-295	2012
加藤則人	おむつ皮膚炎	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	今日の皮膚疾患治療指針. 第4版	医学書院	東京	295-297	2012
加藤則人	脂漏性皮膚炎	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	今日の皮膚疾患治療指針. 第4版	医学書院	東京	297-299	2012
加藤則人	貨幣状湿疹	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	今日の皮膚疾患治療指針. 第4版	医学書院	東京	299-300	2012
加藤則人	眼科疾患と皮膚病変	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	今日の皮膚疾患治療指針. 第4版	医学書院	東京	963-965	2012
加藤則人	ステロイド外用療法 - 患者指導のコツ	上出良一	匠に学ぶ皮膚科外用療法 - 古きを生かす、最新を使う -	全日本病院出版会	東京	166-169	2012
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	正しいステロイドの使い方. 2. 外用剤編	医薬ジャーナル社	大阪	55-61	2012
加藤則人	IgE の役割は?	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	皮膚科サブスペシャリティーシリーズ 6 巻, 一冊で分かる皮膚アレルギー	文光堂	東京	119-121	2012
加藤則人	アレルギー反応の古典的分類は今	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	皮膚科サブスペシャリティーシリーズ 6 巻, 一冊で分かる皮膚アレルギー	文光堂	東京	2-6	2012
加藤則人	血小板	塩原哲夫, 宮地良樹, 渡辺晋一, 佐藤伸一	皮膚科サブスペシャリティーシリーズ 6 巻, 一冊で分かる皮膚アレルギー	文光堂	東京	36-37	2012
加藤則人	思春期アトピー性皮膚炎の特徴は?	宮地良樹	思春期の皮膚トラブル FAQ	診断と治療社	東京	73-78	2012



加藤則人	蕁麻疹の診断と鑑別疾患	秀道広	皮膚科臨床アセット 16 蕁麻疹・血管性浮腫パーフェクトマスター	中山書店	東京	印刷中	
加藤則人	ビタミン D3 外用剤	大槻マミ太郎	皮膚科臨床アセット2「乾癬とその類症」	中山書店	東京	印刷中	
加藤則人	壞疽性膿皮症	瀧川雅浩, 渡辺晋一	皮膚疾患最新の治療 2013-2014	南江堂	東京	印刷中	
加藤則人	アトピー性皮膚炎	永井良三, 福井次矢, 上村直実, 木村健二郎, 桑島巖, 今井靖, 島田元	今日の臨床サポート	エルゼビア・ジャパン	東京	印刷中	

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

# SASPase regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing

Takeshi Matsui<sup>1\*†</sup>, Kenichi Miyamoto<sup>2</sup>, Akiharu Kubo<sup>3,4</sup>, Hiroshi Kawasaki<sup>3</sup>, Tamotsu Ebihara<sup>3</sup>, Kazuya Hata<sup>5</sup>, Shinya Tanahashi<sup>5</sup>, Shizuko Ichinose<sup>6</sup>, Issei Imoto<sup>7,8</sup>, Johji Inazawa<sup>7</sup>, Jun Kudoh<sup>2</sup>, Masayuki Amagai<sup>3</sup>

Keywords: dermatology; epidermis; filaggrin; protease; skin

DOI 10.1002/emmm.201100140

Received September 22, 2010

Revised March 11, 2011

Accepted March 11, 2011

The stratum corneum (SC), the outermost layer of the epidermis, acts as a barrier against the external environment. It is hydrated by endogenous humectants to avoid desiccation. However, the molecular mechanisms of SC hydration remain unclear. We report that skin-specific retroviral-like aspartic protease (SASPase) deficiency in hairless mice resulted in dry skin and a thicker and less hydrated SC with an accumulation of aberrantly processed profilaggrin, a marked decrease of filaggrin, but no alteration in free amino acid composition, compared with control hairless mice. We demonstrated that recombinant SASPase directly cleaved a linker peptide of recombinant profilaggrin. Furthermore, missense mutations were detected in 5 of 196 atopic dermatitis (AD) patients and 2 of 28 normal individuals. Among these, the V243A mutation induced complete absence of protease activity *in vitro*, while the V187I mutation induced a marked decrease in its activity. These findings indicate that SASPase activity is indispensable for processing profilaggrin and maintaining the texture and hydration of the SC. This provides a novel approach for elucidating the complex pathophysiology of atopic dry skin.

## INTRODUCTION

Skin is the outermost tissue of terrestrial animals. It forms an effective barrier between the organism and the environment, which is indispensable for the prevention of the invasion of microorganisms, chemical compounds and allergens, and the maintenance of moisture levels of the skin. Skin is composed of three layers: the epidermis, dermis, and hypodermis. The epidermis is a stratified squamous, keratinized epithelium composed of the stratum basale (SB), stratum spinosum (SS), stratum granulosum (SG), and stratum corneum (SC) (Watt, 1989). Epidermal cells (keratinocytes) divide and differentiate as they move upward from the SB to the SC. At the SG-to-SC transition, the keratinocytes dramatically transform themselves from three-dimensional living cells to two-dimensional, flattened and dead cells without intracellular organelles containing keratin bundles and lipids to constitute the SC (Candi et al, 2005). During this abrupt and dynamic terminal differentiation, keratinocytes express various proteins such as keratins, profilaggrin/filaggrin, involucrin, small proline-rich proteins,

(1) Medical Top Track (MTT) Program, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

(2) Laboratory of Gene Medicine, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

(3) Department of Dermatology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

(4) Center for Integrated Medical Research, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

(5) Sunplanet Co. Ltd, Gifu, Japan

(6) Instrumental Analysis Research Center, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

(7) Department of Molecular Cytogenetics, Medical Research Institute and School of Biomedical Science, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

(8) Department of Human Genetics and Public Health, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

\*Corresponding author: Tel: +81 75 753 9844; Fax: +81 75 753 9820;

E-mail: tmatsui@icems.kyoto-u.ac.jp

† Present address: Institute for Integrated Cell – Material Sciences (iCeMS), Kyoto University, Kyoto, Japan

loricrin, cystatin A, and elafin, which form the cornified envelope of mature corneocytes (Candi et al, 2005).

It has long been recognized that there is a heritable component for the development of atopic dermatitis (AD) (Barnes, 2010). Recent reports indicate that 'filaggrin' has nonsense mutations in ichthyosis vulgaris (IV) patients and is the major predisposing factor for atopic eczema, asthma, and allergies (Smith et al, 2006; Irvine, 2007; Palmer et al, 2006; Sandilands et al, 2009). These reports further indicate that early onset of AD is caused by outside-to-inside paradigms, namely a primary barrier abnormality (Elias & Steinhoff, 2008), and filaggrin nonsense mutations are carried by nearly 10% of Europeans. However, such filaggrin mutations are found in ~50 and 20% of European and Japanese AD patients, respectively (Barker et al, 2007; Nomura et al, 2008; Sandilands et al, 2007, 2009), indicating that patients with AD who have normal filaggrin alleles are likely affected by other previously unidentified predisposing factors.

Filaggrin is expressed as a profilaggrin of >400 kDa in humans, which is a major component of keratohyalin granules in the SG of the epidermis (Dale et al, 1985; Presland et al, 2006). Profilaggrin is an insoluble phosphoprotein that consists of an amino terminal  $\text{Ca}^{2+}$ -binding protein of the S-100 family, linked to 10–12 tandem filaggrin monomer repeats (Dale et al, 1985; Harding & Scott, 1983; McGrath & Uitto, 2008). At the SG-to-SC transition, each filaggrin repeat is processed by certain protease(s) to generate the filaggrin monomer (37 and 28 kDa in human and mouse, respectively). The resulting monomer filaggrin has an unusual cationic charge, strongly binds to and bundles the keratin cytoskeleton to form microfibrils, and is believed to contribute to the production of flattened cells in the lower SC (Dale et al, 1978). Additionally, part of the filaggrin-keratin complex is cross-linked by transglutaminase to build the skin barrier (Candi et al, 1998, 2005; Harding & Scott, 1983; Steinert & Marekov, 1995). Keratin-bound filaggrin is citrullinated and further degraded into amino acids, which constitute a part of the natural moisturizing factor (NMF) in the upper SC (Tarcsa et al, 1996; Mechin et al, 2005; Nachat et al, 2005; Ishida-Yamamoto et al, 2002; Denecker et al, 2007; Kamata et al, 2009). Therefore, at the transition of the SG-to-SC, processing from profilaggrin to filaggrin is the rate-limiting, critical step for the profilaggrin processing cascade leading to SC moisturizing.

Several proteases are involved in profilaggrin to filaggrin processing. Calpain I and profilaggrin endopeptidase I (PEP-I) are important for the processing of the linker peptides between the filaggrin monomer repeats to generate the monomeric filaggrin *in vitro* (Resing et al, 1989, 1993a,b, 1995; Yamazaki et al, 1997); furin or convertase are involved in cleavage of the N-terminus from profilaggrin (Pearnton et al, 2001); and knockout mice of matriptase/MT-SP1 and prostaticin (CAP1/Prss8) show a defect in the conversion of profilaggrin to filaggrin (Leyvraz et al, 2005; List et al, 2003). Although the N- and C-terminal sequences of mouse, rat and human filaggrin have been determined (Resing et al, 1989, 1993b; Thulin & Walsh, 1995; Thulin et al, 1996), whether the linker sequences of profilaggrin are cleaved by matriptase or prostaticin remains unclear.

Human and mouse retroviral-like aspartic protease, SASPase (skin aspartic protease; Asprv1), was the first identified stratified epithelia-specific protease expressed exclusively in the SG (Bernard et al, 2005; Matsui et al, 2006). This protease has been cloned as a 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced gene (Taps) from mouse back skin epidermis (Rhiemeier et al, 2006). Recently, aberrant SASPase expression in transgenic mice was reported to cause impaired skin regeneration and skin remodelling after cutaneous injury and chemically induced hyperplasia (Hildenbrand et al, 2010). We have previously reported that SASPase-deficient mice showed increased fine wrinkles on the side of the adult body, suggesting that SASPase plays a certain physiological role in the SG and SC, although precise physiological and biochemical analysis was difficult due to the presence of hair. In this report, we produced SASPase-deficient 'hairless' mice. Through physiological and biochemical analyses of the mice, we demonstrate that SASPase activity plays a key role in determining the texture of SC by modulating SC hydration as well as profilaggrin processing. Moreover, we also report the identification of loss-of-function mutation of SASPase in the human genome.

## RESULTS

### Generation of SASPase-deficient hairless mice

Using high-throughput *in situ* hybridization screening, we previously identified a mouse homologue of SASPase and showed that SASPase-deficient mice displayed fine wrinkles on the side of their bodies (Matsui et al, 2004, 2006). Because SASPase is expressed exclusively in the SG and SC, these wrinkles were hypothesized to be derived from aberrant functions of the SG and SC. To further analyse the effect of a deficiency of SASPase on the epidermal surface, we transferred the ablated allele to a Hos/HR-1 hairless background. Hos:HR-1 mice (BALB/c background) were crossed with SASP<sup>-/-</sup> mice (C57BL/6J background) using a speed congenic method (Wakeland et al, 1997). Immunoblotting of the skin in SASP<sup>+/+</sup>, SASP<sup>+/-</sup>, and SASP<sup>-/-</sup> hairless mice showed no expression of SASPase in the SASP<sup>-/-</sup> epidermis (Supporting information Fig 1A). Frozen sections of SASP<sup>+/-</sup> and SASP<sup>-/-</sup> hairless mouse ears were stained with anti-SASP pAb and revealed a loss of the SASPase signal in the SG of the SASP<sup>-/-</sup> epidermis (Supporting information Fig 1B). Therefore, immunoblotting and immunofluorescence staining of frozen sections did not detect SASPase in SASPase deficient mice, indicating that the epidermis of SASP<sup>-/-</sup> mice was successively deficient in SASPase protein in the hairless background.

### Appearance of SASP<sup>-/-</sup> hairless mice

Like normal mice, hairless mice (Hos:HR-1) grow hair after birth; however, at 17–23 days, they lose this hair due to hair root atrophy in 3–4 days, starting with the head, and become completely hairless at 3.5 weeks of age. Thereafter, we observed that SASP<sup>-/-</sup> hairless mice had more fine wrinkles and drier, rougher skin than their SASP<sup>+/+</sup> and SASP<sup>+/-</sup> counterparts (Fig 1A left). Female mice tended to show a more marked