

2013-22025A

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
免疫アレルギー研究分野)

アトピー性皮膚炎発症機序の解明と皮膚バリア
ケアによる予防法の開発に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成26(2014)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
免疫アレルギー研究分野)

アトピー性皮膚炎発症機序の解明と皮膚バリア ケアによる予防法の開発に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

研究代表者 天谷 雅行

平成26(2014)年 5月

目 次

I. 平成25年度総括研究報告

- アトピー性皮膚炎発症機序の解明と皮膚バリアケアによる予防法の開発に関する研究…………… 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25年度分担研究報告

- 新規マウス自然発症性皮膚炎原因遺伝子Tmem79の同定とヒトアトピー性皮膚炎患者での
Tmem79の解析……………11

慶應義塾大学医学部 皮膚科学 准教授 海老原 全
慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター 特任講師 佐々木貴史

- 表皮におけるADAM17の欠損はアトピー性皮膚炎に類似した病態を引き起こす……………15
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 専任講師 永尾 圭介

- 皮膚バリア破綻モデルマウスの作成と解析……………18
慶應義塾大学医学部 皮膚科学 専任講師 久保 亮治

- アトピー由来黄色ブドウ球菌の皮膚定着能に関する研究……………22
広島大学大学院医歯薬保健学研究院 細菌学 教授 菅井 基行

- スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関する研究……………25

(独) 国立成育医療研究センター 副研究所長 斎藤 博久
(独) 国立成育医療研究センター生体防御系内科部アレルギー科 医長 大矢 幸弘
(独) 国立成育医療研究センター感覚器・形態外科部皮膚科 医長 新関 寛徳
徳島大学疾患酵素学研究センター・酵素分子化学部門 特任教授 木戸 博
広島大学大学院医歯薬保健学研究院 細菌学 教授 菅井 基行

- 臍帯血の抗原特異的低親和性IgEの検出と、生後のAffinity Maturationが関与するアトピー
性皮膚炎の発症と、その予防……………30

徳島大学疾患酵素学研究センター・酵素分子化学部門 特任教授 木戸 博

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	37
IV. 平成25年度班会議プログラム	39
V. 平成25年度構成員名簿	47

I . 平成 25 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

アトピー性皮膚炎発症機序の解明と皮膚バリアケアによる予防法の
開発に関する研究

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による経皮的抗原曝露の亢進がアトピー性皮膚炎をはじめとするアトピー性疾患を発症、増悪させるという観点から、アトピー性皮膚炎発症機序を解明する基礎研究と、バリアケアによるアトピー性皮膚炎発症、増悪の予防法を確立するための疫学的臨床研究を行う。H25年度において、基礎研究では、角層バリア機能障害を有するアトピー性疾患発症関連新規遺伝子として、SPF環境下において皮膚炎を自然発症する matted マウスの責任遺伝子 Tmem79 を同定した。Tmem79 は表皮顆粒層最外層 (SG1 細胞) において強く発現しており、Tmem79 変異により層板顆粒の分泌が障害されることが明らかになった。ヒトアトピー性皮膚炎においては、日本人患者では、ヒト TMEM79 に有意な変異を同定する事はできなかったが、Dundee 大学の Saunders のグループより、3000 人以上を用いたコホート解析により p. V147M がイギリス AD 患者集団と弱い連鎖を示す事が報告された。疫学的臨床研究においては、スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関するランダム化介入試験により、スキンケアがアトピー性皮膚炎の発症予防に有効であることを示唆する結果が得られた。最終的な結論は、次年度の結果を待たなければいけないが、発症前の Proactive は保湿剤の使用がアトピー性皮膚炎の発症を予防し得ることを示唆している。新新生児期から 6 ヶ月以上に渡りこれらの測定をした報告はほとんどなく、有意義である。本年度の成果は、基礎的なアプローチと疫学的なアプローチが共に皮膚バリアケアの重要性を示しており、次年度以降の研究展開がさらに期待される。

研究分担者	永尾 圭介	慶應義塾大学医学部
斎藤 博久	(独)国立成育医療研究センター研究所 小児アレルギー学 副所長	皮膚科学 専任講師
木戸 博	徳島大学疾患酵素学研究中心 酵素分子化学部門 特任教授	久保 亮治 慶應義塾大学医学部 皮膚科学 専任講師
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	佐々木貴史 慶應義塾大学医学部 総合医科学研究センター 特任講師
大矢 幸弘	(独)国立成育医療研究センター研究所 アレルギー科 医長	
新関 寛徳	(独)国立成育医療研究センター研究所 皮膚科学 医長	
海老原 全	慶應義塾大学医学部 皮膚科学 准教授	

A. 研究目的

本研究では、皮膚バリア機能障害による経皮的抗原曝露の亢進がアトピー性皮膚炎をはじめとするアトピー性疾患を発症、増悪させるという観点から、アトピー性皮膚炎発症機序を解明する基礎研究と、バリアケアによるアトピー性皮膚炎発症、増悪の予防法を確立するための疫学的臨床研究を行う。基礎研究では、フィラグリン以外の新規アトピー性皮膚炎

発症関連新規候補遺伝子の探索、同定を行うとともに、アトピー性疾患モデルマウスの作成、解析を行い、発症機序の解明をめざす。臨床研究では、H22年度から開始された「適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究」を継続、発展させることにより、スキンケア、バリアケアによりアトピー性皮膚炎の発症、増悪を予防することが可能か、疫学的研究を行う。

B. 研究方法

1) 角層バリア機能障害を有するアトピー性疾患発症関連新規候補遺伝子の同定

Flaky tail マウスは、皮膚炎を自然発症するモデルマウスとして広く使用されている。このマウスは尾部の角層形成異常に関わる flaky tail と毛髪異常に関わる matted の2種類の常染色体劣性変異を有している事が明らかになっている。本研究において、flaky tail 変異は Flg 遺伝子の1塩基欠損であること、Flg KO マウスは皮膚炎を自然発症しないことを明らかにし、flaky tail マウスの皮膚炎の原因遺伝子は matted 遺伝子である可能性を示した。そこで、flaky tail マウスの matted 変異を同定し、そのヒト相同遺伝子のAD患者及びコントロールでの解析を行った。

2) アトピー性皮膚炎モデルマウスの作成、及び解析

Adam17^{f1/f1} マウスを *Sox9-Cre* マウスと交配させ *Sox9* 発現細胞で *Adam17* を欠損させた *Adam17^{f1/f1}Sox9-Cre* (*Adam17^{ΔSox9}*) マウスを作成し、免疫組織化学、ELISA、フローサイトメトリーなどを用いて皮膚の表現型を中心に解析した。

3) フィラグリン (FLG) 欠損角層における黄色ブドウ球菌付着性・固着性の検討

皮膚付着/固着解析: 黄色ブドウ球菌の付着実験、固着実験にはヘアレス FLG-KO マウスの生後4日後の新生児マウスを用いた。表皮傷害マウスでの感染実験: テ

ープトリップ、もしくは、sandpaper 処理により表皮傷害したマウスを用いて、AD 株とそれ以外の株を感染させて病理組織解析を行った。AD 株のゲノム解析: 各疾患代表株のゲノム配列解読したものと、登録されている全ての既知配列を用いて、比較ゲノム解析を行った。

4) スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関するランダム化介入試験

研究デザインは無作為化オープン並行群間試験で、生後1週未満の健康な新生児を対象とし、スキンケアを予防的 (proactive) に実施する群と必要時 (reactive) に実施する群に分け、32週間指定されたスキンケアを継続し、アトピー性皮膚炎の発症率を比較した。途中、4週、12週、24週、32週と外来でフォローし、皮膚バリア機能の指標である TEWL (transepidermal water loss)、角質水分量の測定と、皮膚黄色ブドウ球菌の有無を調べるための皮膚ぬぐい液の採取を行った。

また、出生時、12週、32週では血液検査も行い、TARC (thymus and activation-regulated chemokine)、特異的 IgE の測定を行った。本研究は国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施された。

5) 臍帯血抗原特異的低親和性 IgE 検出法の開発

低親和性抗原特異的 IgE 抗体の検出は、ガラス基板表面を化学修飾することによって、抗原を高密度に固定化する方法を開発したことから、微量の抗原特異的 IgE を高感度に検出することに成功した

(Anal Chim Acta 2011; 706: 321-327)。使用検体は、2004年から2005年にかけて岐阜大学で行われた岐阜アレルギー免疫コホート研究の検体を使用した。

C. 研究結果

1) 角層バリア機能障害を有するアトピー性疾患発症関連新規候補遺伝子の同定

マウス Matted 変異最小責任領域を次世

代シーケンサーで解読した結果、Tmem79 p. Y280*変異と KIAA0907 p. A43V を同定した。Tmem79 は、皮膚に強く発現している事、及び Tmem79 遺伝子の導入した matted マウスが皮膚炎症状を起こさなかった事から、matted 変異は Tmem79 p. Y280*変異であると同定した。この Tmem79 はマウス内に相同遺伝子はなく、ヒトでも同一の遺伝子構造を有する TMEM79 遺伝子が存在していた。そこで、AD 患者 250 人及び健康人コントロール 100 人に対し、ヒト TMEM79 遺伝子のコーディング領域の全解読を行った。その結果、ヒト多型データベースにすでに登録されている 3 種の多型 (p. P42L(rs79735386) 、 p. V147M(rs6684514) 、 c. 1458G>C(rs3795728)) を頻度の高い多型として、また他にヒト多型データベースに登録のない 5 種のマイナーな変異を同定したが、ナンセンス変異や AD 患者とコントロールの間で有為な差がある変異は同定されなかった。

2) アトピー性皮膚炎モデルマウスの作成、及び解析

Adam17^{ΔSox9} マウスは 3 週齢頃より搔痒行動を呈し、落屑、脱毛、紅斑などを伴う皮膚炎を発症した。病理組織学的には角化亢進、表皮肥厚に加え、単核球および肥満細胞の浸潤が認められた。皮膚バリア機能の指標である TEWL は高値を示しバリア機能の低下が示唆された。血清総 IgE および T_H2 ケモカインの一つである TARC/CCL17 値は皮膚炎発症時より上昇を示した。皮膚所属リンパ節においては IFN- γ を産生する T_H1 および IL-4 を産生する T_H2 に加えて、IL-17A を産生する T_H17 の数が著明に増加していた。特に皮膚においては、マウスの表皮に常在する $V\gamma5^+$ の $\gamma\delta$ T cell が消失し、IL-17A を産生する $V\gamma5^-\gamma\delta$ T cell ($T_{\gamma\delta17}$) の顕著な浸潤が認められた。

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

新生仔 FLG KO マウス皮膚において、アトピー性皮膚炎 (AD) 由来黄色ブドウ球菌株は固着性を示す。さらに、ヘアレス

FLG KO マウスでも固着性を示すか確認したところ、AD 株は B6 バック FLG KO マウスと同様に有意に固着性を示した。AD 株をヘアレス WT、あるいは、FLG KO マウス皮膚に感染させても 1-2 week では明らかな肉眼的所見は認めなかった。そこで、テープストリップにより FLG KO マウスの角層を除去した皮膚に AD 株を感染させたところ、3 日後に大きな痂皮形成が認められたが、他の疾患株では有意に小さかった。病理学的な観察から、AD 株は表皮層の肥厚とリンパ球の浸潤の増加が認められた。

一方、比較ゲノム解析から、AD 株で病原因子となりうる候補遺伝子の存在が想定された。これらの機能解析を行う為、遺伝子欠損株の作製が必須である。ところが、AD 株は外来遺伝子の侵入を防御する特異な制限修飾系システムをもつ為か、通常の遺伝子改変方法による遺伝子導入はできなかった。今後、本年から利用され出したゲノム改変手法 CRISPR/Cas9 システムを用いて変異株作製を試みる予定である

4) スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関するランダム化介入試験

2013 年 11 月 18 日現在、118 例より参加同意を得ている。そのうち、出産後の母体、児の体調不良などでリクルート基準に達しなかった児を除く 116 例がランダム化登録を完了した。(Proactive 群 61 例、Reactive 群 57 例) 研究参加開始後、研究を開始できなかった 2 例と同意撤回の 7 例を除く 109 例 (Proactive 群 57 例、Reactive 群 : 52 例) が解析の対象となった。解析は 2013 年 11 月 18 日現在のデータで実施した。32 週までのアトピー性皮膚炎の発症をアウトカムとした χ^2 二乗検定による p 値は 0.07 と有意差はでなかったが、アトピー性皮膚炎に乳児湿疹 A (搔痒を伴うが、出現から 4 週間以内の皮疹) を加えアウトカムとすると p 値は 0.018 となった。このことから、乳児湿疹 A がその後アトピー性皮膚炎に進展するかを再検討する必要がある

と考え、フォロー期間を36週(32週+4週)としてアウトカムを再計算したところ、36週時点でのアトピー性皮膚炎の発症はReactive群で有意に高くなることが分かった($p=0.049$)。そのため、保湿塗布によってアトピー性皮膚炎が予防できる可能性が高いと判断し、本研究への新規のエントリーは2013年11月8日をもって終了とした。副次的評価項目である皮膚バリア機能(TEWL、角質水分量)や特異的IgEは現在結果の集計中である。

5) 臍帯血抗原特異的低親和性IgE検出法の開発

本研究において、臍帯血の抗原特異的IgEの性状を解析した。なお、今回は抗原として(Ovomucoid: OVM)を使用した。その結果、OVMを搭載した蛋白チップへの抗-OVM特異的IgEの結合反応を競合阻害するOVMの阻害パターンから、臍帯血のIgEは6ヶ月14ヶ月血のIgEに比べて競合阻害感度が低く、低親和性であることが示された。さらに人のIgEレセプターとルシフェラーゼレポーターを組み込んだ肥満細胞系に、臍帯血、6ヶ月、14ヶ月血のOVM特異的IgEを添加しOVMでチャレンジしたところ、低親和性IgEを示す臍帯血IgEではルシフェラーゼレポーターは発動せず、6ヶ月、14ヶ月血のOVM特異的IgEではルシフェラーゼレポーターが発動された。以上の結果から、臍帯血は低親和性抗原特異的IgEのためアレルギー反応は抑制されているが、生後6ヶ月までの間に繰り返される抗原感作とHyper Mutationによって、IgE抗体はAffinity Maturationを起こしていることが判明した。

D. 考察

本年度のアトピー性疾患発症関連新規候補遺伝子の同定において、アトピー性皮膚炎マウスモデルで新規に同定されたTmem79の解析を行ったが、日本人AD患者のヒトTMEM79に有意な変異を同定する事はできなかったが、我々と同時にTmem79を同定したDundee大学のSaundersのグループは、3000人以上を用いたコホート

解析によりp.V147MがイギリスAD患者集団と弱い連鎖を示す事を報告した。これらことから日本人でもTMEM79がAD患者と連鎖している可能性はあり、そのために大規模な集団の解析が今後必要となると考えられた。

アトピー性皮膚炎モデルマウスの作成において、*Adam17^{ΔSox9}*マウスの解析に大きな進展が見られた。アトピー性皮膚炎の病態は T_H2 優位のアレルギー性の免疫反応を中心に説明されることが多かったが、近年、特に慢性化したchronic phaseでは T_H1 および T_H17 の関与も広く認知されるようになってきた。*Adam17^{ΔSox9}*マウスは T_H1 、 T_H2 、 T_H17 を有した様々なヘルパーT cellからなる混合型の皮膚炎を生じたことから、これらの細胞集団の皮膚炎の関与が疑われた。また、自然免疫系の役割を持つ $T\gamma\delta17$ の著明な浸潤を認め、今後この細胞集団を誘引する要因の探索、病態への関与の解析が期待される。

スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関するランダム化介入試験においては、スキンケアがアトピー性皮膚炎の発症予防に有効であることを示唆する結果が得られている。2013年11月18日に実施した解析ではアトピー性皮膚炎の発症がReactive群で有意に高い結果が得られた。これは、発症前のProactiveは保湿剤の使用がアトピー性皮膚炎の発症を予防し得ることを示唆している。また、TEWL (transepidermal water loss)、角質水分量、皮膚pH、特異的IgE検査も実施しており、今後これらがAD発症や経皮感作の予測因子となりうる可能性もある。新生児期のこのような検査の報告自体極めて少ないうえ、新生児期から6ヶ月以上に渡りこれらの測定をした報告はほとんどなく、これらの結果はアトピー性疾患発症予防の観点だけでなく基礎的な研究結果として重要なものとなると考えられる。

E. 結論

本研究の成果により、アトピー性疾患の発症に関与する皮膚バリア機能関連遺

伝子の同定がなされ、アトピー性皮膚炎発症における病態が確実に解明されてきている。さらに、スキンケア、バリアケアによりアトピー性皮膚炎の発症、増悪を予防すること可能であることが、ランダム化介入試験により示されつつある。皮膚バリア機能を補正することによりアトピー性疾患の発症、アレルギーマーチを予防、抑制することができれば、厚生行政に多大なる貢献が期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表（平成 25 年度）

< 論文発表 >

《英語論文》

- Hata T, Nishimoto S, Nagao K, Takahashi H, Yoshida K, Ohyama M, Yamada T, Asano K, Amagai M: Ectopic expression of epidermal antigens renders the lung a target organ in paraneoplastic pemphigus. **J Immunol** 191 (1), 83-90, 2013.
- Hisatsune J, Hirakawa H, Yamaguchi T, Fudaba Y, Oshima K, Hattori M, Kato F, Kayama S, Sugai M: Emergence of Staphylococcus aureus carrying multiple drug resistance genes on a plasmid encoding exfoliative toxin B. **Antimicrob Agents Chemother** 57 (12), 6131-6140, 2013.
- 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, 2013.
- Kayama S, Shigemoto N, Kuwahara R, Ishino T, Imon K, Onodera M, Yokozaki M, Ohge H, Sugai M: The first case of septicemia caused by imipenem-susceptible, meropenem-resistant Klebsiella pneumoniae. **Ann Lab Med** 33 (5), 383-385, 2013.
- Kobayashi K, Hayashi I, Kouda S, Kato F, Fujiwara T, Kayama S, Hirakawa H, Itaha H, Ohge H, Gotoh N, Usui T, Matsubara A, Sugai M: Identification and characterization of a novel aac(6')-Iag associated with the blaIMP-1-integron in a multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. **PLoS One** 8 (8), e70557, 2013.
- Kubo A, Ishizaki I, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M: The stratum corneum comprises three layers with distinct metal-ion barrier properties. **Sci Rep** 3 1731, 2013.
- Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M: Mutations in *SERPINB7*, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause nagashima-type palmoplantar keratosis. **Am J Hum Genet** 93 (5), 945-956, 2013.
- Matsumoto K, Saito H: Epicutaneous immunity and onset of allergic diseases -per-"eczema"tous sensitization drives the allergy march. **Allergol Int** 62 (2), 291-296, 2013.
- Morita H, Nomura I, Orihara K, Yoshida K, Akasawa A, Tachimoto H, Ohtsuka Y, Namai Y, Futamura M, Shoda T, Matsuda A, Kamemura N, Kido H, Takahashi T, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K: Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to T(H)2. **J Allergy Clin Immunol** 131 (2), 590-592, 2013.
- Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in the gene for Tmem79, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. **J Allergy Clin Immunol** 132 (5), 1111-1120, 2013.
- 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** 71 (2), 89-99, 2013.
- Kamemura N, Kawamoto N, Nakamura R, Teshima R, Fukao T, Kido H: Low-affinity allergen-specific IgE in cord blood and affinity maturation after birth. **J Allergy Clin Immunol** 133 (3), 904-905, 2014.

《日本語論文》

1. 久保亮治: バリア異常からみたアトピー性皮膚炎の病態と治療. 日本皮膚科学会雑誌・臨時増刊号 123 (13), 2702-2706, 2013.
2. 久保亮治: 皮膚バリア機能障害からみたアトピー性疾患の病態解明. 日本小児科医会会報第45号 アレルギー特集号 (45), 31-37, 2013.
3. 久保亮治, 天谷雅行: 経皮感作はなぜ重要か?—皮膚バリア障害からみたアトピー疾患—. 皮膚アレルギーフロンティア 11 (3), 131-135, 2013.
4. 久恒順三, 達川伸行, 佐藤祐介, 加藤文紀, 鹿山鎮男, 菅井基行: 黄色ブドウ球菌. 感染症内科 1 (3), 275-285, 2013.
5. 佐々木貴史, 天谷雅行: アトピー性皮膚炎の皮膚バリアからみた病態. 臨床免疫・アレルギー科 60 (3), 276-281, 2013.
6. 大矢幸弘: 経皮感作とアレルギー スキンケアによるアトピー性皮膚炎の発症予防. 臨床免疫・アレルギー科 59 (5), 581-586, 2013.
7. 川崎洋, 天谷雅行: フィラグリニ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.

<学会発表>

《英語発表》

1. Adachi T, Kobayashi T, Amagai M, Nagao K: Epidermotropic resident memory T cells require hair follicle-derived cytokines to reside in epidermis. **The International Investigative Dermatology 2013**, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
2. Kobayashi T, Horiuchi K, Adachi T, Kawasaki H, Amagai M, Nagao K: TACE/ADAM17 deficiency in epidermis leads to IL-17A-associated inflammation with atopic dermatitis-like phenotype. **The International Investigative Dermatology 2013**, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
3. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M: The stratum corneum comprises three layers with distinct barrier properties to metal ions. **The International Investigative Dermatology 2013**, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
4. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki

- H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation of gene for *Mattrin*, a component of lamellar granule secretory system, produces spontaneous dermatitis in mice. **The International Investigative Dermatology 2013**, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
5. Amagai M: The three musketeers of the epidermal barrier and atopic dermatitis. **ASPCR-ASDR 2013**, Sydney, Australia, 2013. 5. 17- 19.
6. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Mizuno H, Yamada T, Amagai M: Filaggrin-null mice exhibit impaired stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses. **ASPCR-ASDR 2013**, Sydney, Australia, 2013. 5. 17- 19.
7. Amagai M: The epithelium as a barrier. **EAACI-WAO Congress 2013 (joint congress organised by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the World Allergy Organization)**, Milan, Italy, 2013. 6. 22- 26.
8. Amagai M: Three musketeers of skin barrier and atopic dermatitis. **9th Asian Dermatological Congress**, Hong Kong, 2013. 7. 10- 13.
9. Kubo A: Molecular barrierology of the stratum corneum and epidermal tight junctions. **Molecular Mechanisms Regulating Skin Homeostasis 2013**, Koln, Germany, 2013. 9. 23- 25.
10. Ishizaki I, Hammond J, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M, Kubo A: TOF-SIMS imaging unveiled the stratum corneum of the skin consisting of three layers with distinct properties. **19th International Conference on Secondary Ion Mass Spectrometry**, Jeju, Korea, 2013. 9. 29- 10. 4.
11. Ishizaki I, Hammond J, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M, Kubo A: TOF-SIMS analysis of the barrier properties of the three layers of the stratum corneum to metal ions. **15th European Conference on Applications of Surface and Interface Analysis**, Italy, 2013. 10. 13- 18.
12. Kubo A: The three musketeers of the epidermal barrier. **4th Pan Asian Pacific Skin Barrier Research Annual Symposium**, Seoul, Korea, 2013. 10. 15.
13. Amagai M: Skin barrier dysfunction and

cutaneous sensitization in atopic disease. **The 50th Annual Meeting of the Japanese Society of Pediatric Allergy and Clinical Immunology**, Yokohama, Japan, 2013. 10. 19- 20.

14. Amagai M: Stratum corneum barrier dysfunction and atopic diseases. **42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, Chiba, Japan, 2013. 12. 11- 13.
15. Kawasaki H, Kubo A, Hirano T, Amagai M: Exacerbation of the skin barrier function of filaggrin-null mice in dry environment. **42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, Chiba, Japan, 2013. 12. 11- 13.
16. Sasaki T, Shionama A, Kawasaki H, Kubo A, Yamada T, Okano H, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in Matted, a novel skin barrier gene associated with lamellar granule secretory system, causes spontaneous dermatitis in mice. **42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, Chiba, Japan, 2013. 12. 11- 13.

《日本語発表》

1. 横内麻里子, 川崎洋, 久保亮治, 天谷雅行: バリア障害モデルマウスにおけるタイトジャンクションバリア機能についての検討. **第20回分子皮膚科学フォーラム**, 東京, 2013. 4. 12- 13.
2. 正木克宜, 鈴木雄介, 加川志津子, 樹神元博, 小熊剛, 持丸貴生, 松坂雅子, 加畑宏樹, 宮田純, 田中希宇人, 福永興壺, 天谷雅行, 別役智子, 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53回日本呼吸器学会学術講演会**, 東京, 2013. 4. 19- 21.
3. 鈴木雄介, 正木克宜, 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53回日本呼吸器学会学術講演会**, 東京, 2013. 4. 19- 21.
4. 大矢幸弘: アトピー性皮膚炎の発症因子と発症予防-皮膚科と小児科はこう考える(教育セミナー). **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11-12.
5. 亀村典生, 川本典生, 深尾敏幸, 近藤直

実, 鈴木宏一, 窪田賢司, 木戸博: 出生から生後14ヶ月までの食物抗原特異的抗体価の変動についての検討. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.

6. 品原和加子, 澤淵貴子, 亀村典生, 窪田賢司, 鈴木宏一, 木戸博: カルボキシ化DLC抗体チップを用いたアレルギー性食物抗原の高感度定量測定. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
7. 木戸博, 亀村典生, 多田仁美, 品原和加子, 鈴木宏一, 窪田賢司: アレルギーの診断、発症、寛解の病態評価に必要な血液と粘膜の抗原量の新規高感度定量測定. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
8. 窪田賢司, 亀村典生, 多田仁美, 鈴木宏一, 大矢幸弘, 森田英明, 市岡隆男, 木戸博: 患者の採血負担を最小限にした低侵襲性高感度DLCマルチアレルギーチップの有用性. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
9. 海老原全: 皮膚バリア機能から考えるアトピー性皮膚炎の治療. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
10. 天谷雅行: 皮膚バリア機構の解明と経皮感作. **第22回千葉基礎・臨床免疫セミナー**, 千葉, 2013. 5. 24.
11. 天谷雅行: 皮膚バリア障害とアトピー性疾患. **第8回しもつけ病診連携懇話会**, 宇都宮, 2013. 6. 6.
12. 久保亮治: 皮膚タイトジャンクションバリアから見た皮膚疾患の病態と病理. **第102回日本病理学会総会**, 札幌, 2013. 6. 7.
13. 久保亮治: バリア異常からみたアトピー性皮膚炎の病態と治療. **第112回日本皮膚科学会総会**, 横浜, 2013. 6. 15.
14. 正木克宜, 鈴木雄介, 加川志津子, 樹神元博, 小熊剛, 持丸貴生, 加畑宏樹, 宮田純, 田中希宇人, 福永興壺, 天谷雅行, 別役智子, 浅野浩一郎: 経皮感作喘息モデルマウスにおけるIL-23の役割. **第23回国際喘息学会日本・北アジア部会**, 東京, 2013. 6. 28 - 29.
15. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行:

- 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子Mattedの同定. 第34回日本炎症・再生医学会, 京都, 2013. 7. 2- 3.
16. 岩本優子, 久恒順三, 加藤文紀, 香西克之, 菅井基行: 黄色ブドウ球菌の表皮剥脱毒素ETA遺伝子プロモーター領域の解析. 第7回細菌学若手コロッセウム, 広島県三原市, 2013. 8. 7- 9.
 17. 久保亮治: 角質層バリアと皮膚免疫. 第29回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会, 甲府, 2013. 8. 9.
 18. 天谷雅行: 皮膚バリアが壊れているアトピー性皮膚炎. 免疫ふしぎ未来, お台場, 2013. 8. 11.
 19. 佐伯秀久, 広田朝光, 中川秀己, 常深祐一郎, 佐藤伸一, 天谷雅行, 古江増隆, 玉利真由美: IL22遺伝子多型は日本人の尋常性乾癬と相関する. 第28回乾癬学会学術大会, 東京, 2013. 9. 6- 7.
 20. 天谷雅行: 皮膚バリアを可視化する. 旭川皮膚科講演会, 旭川, 2013. 9. 12.
 21. 天谷雅行: 皮膚バリア機能異常とアトピー性疾患. 第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会, 大宮, 2013. 9. 21- 22.
 22. 天谷雅行: 皮膚バリアを可視化する—3次元、4次元の世界から見えてくる皮膚疾患—. 第17回川崎市皮膚科医学会学術講演会, 川崎, 2013. 10. 2.
 23. 正木克宜, 加畑宏樹, 福永興彦, 加川志津子, 持丸貴生, 松坂雅子, 鈴木雄介, 川崎洋, 佐々木貴史, 天谷雅行, 浅野浩一郎, 別役智子: 重症喘息患者におけるFilaggrin遺伝子変異の検討. 第21回臨床喘息研究会, 伊勢, 2013. 10. 5.
 24. 久恒順三, 萩谷英大, 塩田澄子, 菅井基行: 全身播種したCA-MRSA感染症由来株の解析. 第66回日本細菌学会中国四国支部総会, 広島県呉市, 2013. 10. 12.
 25. 天谷雅行: 皮膚バリア三銃士とアトピー性皮膚炎. 第50回日本小児アレルギー学会, 横浜, 2013. 10. 19- 20.
 26. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行: 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子mattedの同定. 第41回日本免疫臨床学会総会, 下関, 2013. 11. 27- 29.
 27. 品原和加子, 亀村典生, 多田仁美, 鈴木宏一, 窪田賢司, 木戸博: アレルギー診断・発症・寛解の病態評価に必要な血中アレルギー量の新規高感度定量測定法. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2013. 11. 28- 30.
 28. 久保亮治: アトピー性皮膚炎と皮膚バリア. 第77回日本皮膚科学会東京支部, 東京, 2014. 2. 15.
 29. 天谷雅行: 皮膚バリア機能とアレルギー疾患発症機構. 独立行政法人理化学研究所 統合生命医科学研究センターシンポジウム, 東京, 2014. 2. 28.
- ## H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)
- <特許取得>
- 《国内特許》
1. 出願番号:特許出願 2010-145212
出願日:2010年6月25日
公開番号:特許公開 2010-204130
公開日:2010年9月16日
出願人:国立大学法人徳島大学
発明者:木戸博、多田仁美、澤淵貴子、山川由美子、水口寛、木下盛敏
発明の名称:ダイヤモンドチップへの蛋白質/ペプチドの固定化方法
 2. 出願番号:特許出願 2010-129694
出願日:2010年6月7日
公開番号:特許公開 2010-266448
公開日:2010年11月25日
出願人:国立大学法人徳島大学
発明者:木戸博、多田仁美、澤淵貴子
発明の名称:アレルギー疾患の判定方法及びアレルギー疾患の判定キット
 3. 出願番号:特許出願 2012-4752
出願日:2012年3月5日
公開番号:特許公開 2013-179920
公開日:2013年9月12日
出願人:学校法人慶應義塾
発明者:天谷雅行、佐々木貴史、塩濱愛子、工藤純、久保亮治
発明の名称:自然発症皮膚炎の新規原因因子及び皮膚疾患モデル動物
- 《国際特許》
1. 国際出願番号:PCT/JP2008/000242

国際出願日:2008年2月15日
国際公開番号:W02008/111281
国際公開日:2008年9月18日
出願人:国立大学法人徳島大学、オリエンタル酵母工業株式会社
発明者:木戸博、鈴木宏一
発明の名称:アレルギー疾患の判定方法

2. 国際出願番号:PCT/JP2009/002161
国際出願日:2009年5月15日
国際公開番号:W02009/139191
国際公開日:2009年11月19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

<実用新案登録>
なし

II. 平成 25 年度分担研究報告

新規マウス自然発症性皮膚炎原因遺伝子 *Tmem79* の同定と ヒトアトピー性皮膚炎患者での *Tmem79* の解析

研究分担者 海老原 全 慶應義塾大学医学部皮膚科学 准教授
研究分担者 佐々木貴史 慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター 特任講師

研究要旨

Flg^{ft} 変異と *ma* 変異を有し血中 IgE 値上昇を伴う皮膚炎を自然発症するモデルマウス Flaky tail の皮膚炎原因変異は *ma* 変異であり、*ma* 変異は皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* のナンセンス変異である事を明らかにした。ヒト AD 患者 250 人の解析結果、*TMEM79* に AD に関連する変異を同定する事はできなかったが、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

研究協力者

塩濱 愛子 慶應大医学部 MSD アレル
ギー研究寄附講座
特任助教

A. 研究目的

近年アトピー性皮膚炎(AD)患者からフィラグリン(*FLG*)遺伝子の機能喪失変異が疾病素因である事が疫学的に明らかにされ、皮膚バリア機能障害が、アトピー性皮膚炎の発症原因の一つとなる事が明らかになった。Flaky tail マウスは、*Flg* 5303delA(*Flg^{ft}*)変異と *matted* (*ma*)変異を有し血中 IgE 値上昇を伴う皮膚炎を自然発症することから、AD モデルマウスとして注目されている。しかし我々が樹立した *Flg* KO マウスは皮膚炎を自然発症しなかった。この事から、Flaky tail マウスの自然発症皮膚炎の原因遺伝子を同定し、Flaky tail マウスの皮膚炎発症のメカニズムを解明する事を試みた。

B. 研究方法

Flaky tail マウスの皮膚炎発症の原因変異を同定するために、野生型マウスと交配を行い *Flg^{ft}* 変異と *ma* 変異の分離を行った。最小責任ゲノム領域を次世代シーケンサーにより網羅的に解読し、遺伝

子変異を同定した。同定した原因遺伝子候補を *ma* マウスに導入したトランスジェニックマウスを作出し、皮膚炎症状がレスキューされるか解析を行った。同定した原因遺伝子 *Tmem79* の mRNA 及びタンパク質の発現解析を行った。慶應義塾大学病院皮膚科を受診した AD 患者 250 人に対し *TMEM79* 遺伝子の解読し、ヒト AD 患者での関連解析を行った。

C. 研究結果

野生型マウスと Flaky tail マウスの戻し交配に *Flg^{ft}* 変異と *ma* 変異を分離した結果、皮膚炎は *Flg^{ft}* 変異ではなく、*ma* 変異が原因であった(図1)。最小責任ゲノム領域の解読の結果、*Tmem79* 遺伝子ナンセンス変異を同定した。*Tmem79* ゲノム領域をクローニングし *ma* マウスに導入した結果、皮膚炎症状がレスキューされた(図1)。発現解析の結果、*Tmem79* mRNA は表皮に特異的に発現し、抗 *Tmem79* 抗体を用いた皮膚染色の結果、*Tmem79* は顆粒層の最上層に特異的に発現していた。テープストリッピング法を用いて *ma* マウス角質層を解析した結果、*ma* マウスの角質層は野生型より脆弱性を示した(図2)。AD 患者 250 人に対し *TMEM79* 遺伝子の解読を行ったが、AD と関連する変異を同定す

る事はできなかった。

D. 考察

Flaky tail マウスは、血中 IgE 上昇を伴う皮膚炎を自然発症し *Flg^{fl}* 変異を有している事から、AD モデルマウスとして用いられてきた。今回の研究で、Flaky tail マウスの皮膚炎の原因遺伝子は *Flg^{fl}* 変異ではなく、新たな皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* のナンセンス変異である事を明らかにした。*Tmem79* 遺伝子は顆粒層に特異的に発現し、その欠損により角質層が脆弱性を示す事から、*Tmem79* は皮膚バリア関連因子であった。これらの事から、皮膚バリア遺伝子欠損が皮膚炎発症の原因となることが明らかになった。ヒト AD 患者では関連する *TMEM79* 変異を同定できなかったが、共通する皮膚炎自然発症メカニズムが存在する可能性が高いことから、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

E. 結論

マウスにて欠損により血中 IgE 上昇を伴う自然発症皮膚炎の原因となる新規皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* を同定した。ヒト AD 患者 250 人から関連する *TMEM79* 変異は同定できなかったが、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (平成 25 年度)

<論文発表>

1. 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, 2013.
2. Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T,

Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M: Mutations in *SERPINB7*, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause nagashima-type palmoplantar keratosis. **Am J Hum Genet** 93 (5), 945-956, 2013.

3. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in the gene for *Tmem79*, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. **J Allergy Clin Immunol** 132 (5), 1111-1120, 2013.
4. 佐々木貴史, 天谷雅行: アトピー性皮膚炎の皮膚バリアからみた病態. **臨床免疫・アレルギー科** 60 (3), 276-281, 2013.

<学会発表>

1. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation of gene for *Mattrin*, a component of lamellar granule secretory system, produces spontaneous dermatitis in mice. **The International Investigative Dermatology** 2013, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
2. 海老原全: 皮膚バリア機能から考えるアトピー性皮膚炎の治療. 第25回日本アレルギー学会春季臨床大会, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
3. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行: 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子 *Matted* の同定. 第34回日本炎症・再生医学会, 京都, 2013. 7. 2- 3.

4. 正木克宜, 加畑宏樹, 福永興壺, 加川志津子, 持丸貴生, 松坂雅子, 鈴木雄介, 川崎洋, 佐々木貴史, 天谷雅行, 浅野浩一郎, 別役智子: 重症喘息患者におけるFilaggrin遺伝子変異の検討. **第21回臨床喘息研究会**, 伊勢, 2013. 10. 5.
5. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行: 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子mattedの同定. **第41回日本免疫臨床学会総会**, 下関, 2013. 11. 27-29.
6. Sasaki T, Shionama A, Kawasaki H, Kubo A, Yamada T, Okano H, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in Matted, a novel skin barrier gene associated with lamellar granule secretory system, causes spontaneous dermatitis in mice. **42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, Chiba, Japan, 2013. 12. 11- 13.

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

<特許取得>

出願番号:特許出願 2012-4752

出願日:2012年3月5日

公開番号:特許公開 2013-179920

公開日:2013年9月12日

出願人:学校法人慶應義塾

発明者:天谷雅行、佐々木貴史、塩濱愛子、工藤純、久保亮治

発明の名称:自然発症皮膚炎の新規原因因子及び皮膚疾患モデル動物

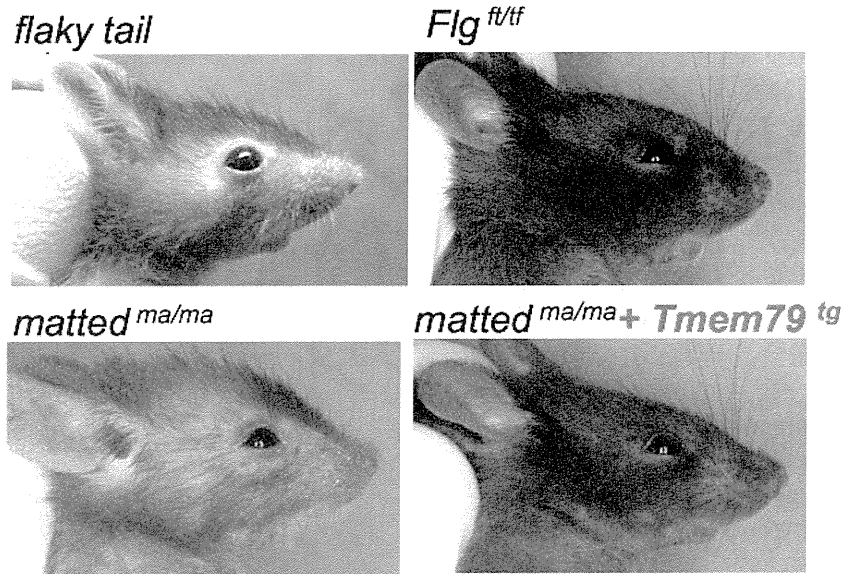
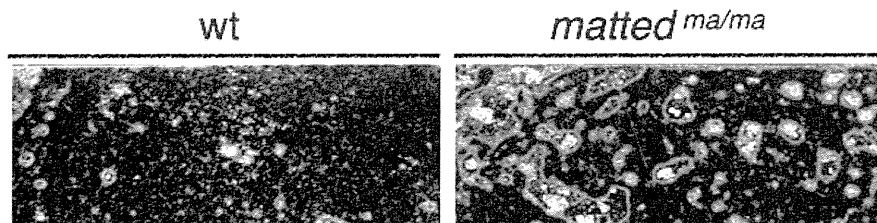


図1 Flaky tailマウスの *Flg^{ft/ft}* と *ma* の分離と *Tmem79*レスキューマウス

テープ剥離角層の正面像



残存角層の垂直切片像

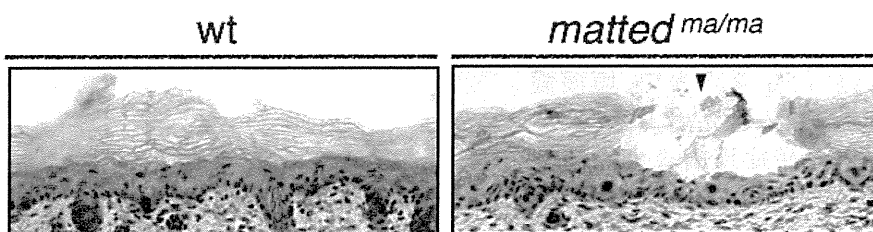


図2 *ma*マウス角層脆弱性

表皮における ADAM17 の欠損は アトピー性皮膚炎に類似した病態を引き起こす

研究分担者 永尾 圭介 慶應義塾大学医学部皮膚科学 専任講師

研究要旨

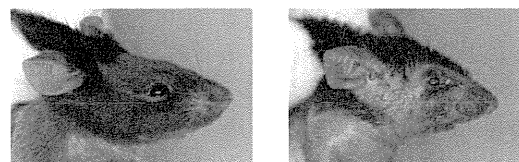
A disintegrin and metalloprotease 17 (ADAM17)は EGFR ligands や TNF- α など膜型蛋白の細胞外領域を切断(シェディング)する。ADAM17はそれらのリガンドの分泌およびその下流のシグナル伝達を調節することで、生体内の様々な生理的および免疫学的機能を調節している生物の生存に必須の蛋白分解酵素である。近年 ADAM17 を欠損した患者がアトピー様の皮膚炎を呈することが報告された。我々は ADAM17 を表皮において欠損させた *Adam17^{flox/flox}/SOX9-Cre (Adam17^{Sox9})* マウスを作成した。本マウスは搔痒を伴う皮膚炎を発症し、さらにはバリア機能の低下、高 IgE 血症、T_H1、T_H2、T_H17、T_H22 の増加などアトピー性皮膚炎(AD)に類似した病態を有することを明らかにした。

研究協力者

小林哲郎

日本学術振興会
特別研究員

図 1 WT *Adam17^{ΔSox9}*



A. 研究目的

ADAM17 欠損によって起こるアトピー様皮膚炎の機序をマウスを用いて解析することによって AD の病態を明らかにする。

B. 研究方法

ADAM17 を表皮で欠損させた *Adam17^{flox/flox}/SOX9-Cre (Adam17^{Sox9})* マウスを作成し、その表現型および免疫学的病態を解析する。

C. 研究結果

Adam17^{Sox9} マウスは 3 週齢頃より搔痒行動を伴う皮膚炎を発症し、症状は週齢が進むに従い悪化する傾向を示した(図 1)。皮膚のバリア機能の指標である TEWL は高値を示し、さらには血清総 IgE および T_H2 ケモカインの一つである TARC/CCL17 値も顕著に上昇した。

皮膚所属リンパ節においては IFN- γ を産生する T_H1 および IL-4 を産生する T_H2 に加えて、IL-17A を産生する T_H17 が増加していた。また *Adam17^{Sox9}* マウスの表皮では免疫細胞の構成が大きく変化していた。正常マウスの表皮では $\gamma\delta$ TCR を高発現する $\gamma\delta$ T 細胞が大部分を占める。一方 *Adam17^{Sox9}* マウスの表皮では $\gamma\delta$ TCR を中程度に発現する $\gamma\delta$ T 細胞および CD4T 細胞の著明な浸潤を認めた。また CD4T 細胞の 30%、 $\gamma\delta$ T 細胞 50%は IL-17A を産生する T_H17 および T $\gamma\delta$ 17 であった(図 2)。また CD4T 細胞の 30%は IL-22 を T_H22 であった。