

生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究

研究分担者 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科教授

A. 研究目的

HVJ-E は Sendai virus (hemagglutinating virus of Japan; HVJ) を紫外線等で不活化した粒子に遺伝子や siRNA を封入し、膜融合作用によって直接細胞質内に導入できるベクターである。この粒子と IL12 の組み合わせが、何故、免疫システムを Th1 優位にシフトできるのかを解明し、アトピー等のアレルギー疾患治療剤としての優位性を明らかにする。

B. 研究方法

マウスの一本鎖 IL12 蛋白質を CHO 細胞から精製する。膜融合能を有する、或いは欠失した HVJ-E を作成する。これらを単独或いは併用して、マウス脾臓細胞全体、さらには脾臓細胞から選別した T cell, B cell, macrophage に作用させ、Th1 関連遺伝子の発現を RT-PCR で解析する。

(倫理面への配慮)

動物実験は、大阪大学医学系研究科で承認された実験計画に基づいて行った。

C. 研究結果

HVJ-E と IL12 の組み合わせで脾臓細胞からの interferon- γ (IFN- γ) のみならず、IL12 receptor, T-bet, IL18 の発現も IL12 単独よりも有意に亢進することがわかった。この中で IL18 のみ、HVJ-E 単独で同様に高い発現を得ることができた。その発現亢進は、膜融合能には左右されず、HVJ-E の F 蛋白質に依存した。選別した免疫細胞を用いると、IL18 は macrophage において発現が増強された。macrophage では HVJ-E により Caspase 11, Caspase 1 の発現も亢進した。一方 IL12 のみで低値ながら、有意に IFN- γ の発現が増強されるのは、T cell であったが HVJ-E を併用させても IFN- γ の発現は増強しなかった。しかし HVJ-E を作用させた macrophage の培養上清を用いると増強され、IL18 の抗体で阻害された。そこで IL12 と組換え IL18 蛋白質を併用すると T cell からの IFN- γ の発現が増強された。IL12 receptor, T-bet の発現は IFN- γ が T cell に作用して増強された。

D. 考察

HVJ-E の F 蛋白質が macrophage から IL18 を産生させ、IL12 と共同で T cell に作用して IFN- γ が産生され、これが T cell での IL12 receptor の発現を T bet を介して高めることで、免疫細胞間で IFN- γ 産生亢進の positive feedback loop ができると考えられる。

E. 結論

IL12 と HVJ-E nF 蛋白質があれば強力なアトピー性皮膚炎の治療剤になりうる。

アトピー性皮膚炎マウスモデルの自発的痒み関連動作への皮膚好塩基球の関与に関する研究

研究分担者 安東嗣修 富山大学大学院医学薬学研究部准教授
研究協力者 中林教馬 富山大学大学院医学薬学教育部院生
辻井謙一郎 富山大学大学院医学薬学教育部院生
倉石 泰 富山大学大学院医学薬学研究部名誉教授

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎は、難治性痒痒性皮膚疾患の1つであり、その痒みの発生機序は未だ解明されていない。これまで、我々は、アトピー性皮膚炎マウスモデルの痒み反応に好塩基球が関与すること、プロテアーゼ活性化受容体 2 (PAR2) や好塩基球から遊離されるセリンプロテアーゼ mMCP-11 が関与していることを見出ししてきた。アトピー性皮膚炎の症状の一つに皮膚バリア破壊が認められるが、その機序の1つにセリンプロテアーゼの1つある Kallikrein 5 (KLK5) の関与が知られており、さらに PAR2 を活性化することも知られている。そこで、本研究では、本マウスモデルの痒み反応への KLK5 の関与について検討した。

B. 方法

実験には、雄性の SPF (specific pathogen free) 環境下飼育健全 NC マウス及び conventional 環境下で飼育しアトピー様皮膚炎の発症した NC マウスを用いた。痒み反応の評価は、無人環境下にマウスを撮影用ケージにいれ、デジタルビデオカメラでその行動を撮影し、その後、ビデオの再生により行った。マウスは、1 秒間に数回後肢で搔くので、足を挙げて降ろすまでの一連の搔き動作を 1 回として、本実験では吻側背部への搔き動作回数を数えた。一部の実験では、KLK5 を SPF 飼育下健全マウスに皮内注射して、注射部位への後肢による搔き動作回数を数えた。皮膚内の KLK5 mRNA の発現は RT-PCR 法により、KLK5 の発現分布は免疫染色法により解析した。

C. 結果

健全 NC マウスへの KLK5 の皮内注射により痒み反応が惹起され、この反応は PAR2 拮抗薬により抑制された。皮膚において KLK5 mRNA の発現や KLK5 の活性が、健全マウスに比べ、皮膚炎マウスで増加していた。KLK5 の活性は、セリンプロテアーゼ阻害薬の nafamostat mesilate で抑制された。皮膚において KLK5 は、主にケラチノサイトでの発現が認められ、一部好塩基球にも認められた。

D. 考察

KLK5 は角層の剥離に関係していることが知られているが、さらに本研究において痒み因子の一つであることが見出された。KLK5 誘発の痒み反応が PAR2 拮抗薬で抑制されたことから、PAR2 を介して痒み反応が起こっていると示唆される。PAR2 は、皮内では主にケラチノサイトに発現しており、KLK5 発現分布からオートクラインおよびパラクラインによりケラチノサイトの活性化を介して痒み反応が起こっていることが示唆される。また、PAR2 は一次感覚神経にも発現していることから、KLK5 が一部直接一次感覚神経を活性化して痒み反応を誘発している可能性も示唆される。さらに KLK5 は好塩基球にも発現している可能性が示めされたことから、好塩基球は mMCP-11 に加え、KLK5 を産生遊離することで痒みの発生に寄与していると考えられる。

E. 結論

アトピー性皮膚炎の痒みには、ケラチノサイトや好塩基球から遊離される KLK5 が関与している可能性がある。

慢性に経過する痒疹26例の検討—分類不能な痒疹の位置づけについて

研究分担者 西澤 綾 防衛医科大学校皮膚科
端本宇志 防衛医科大学校皮膚科
佐藤貴浩 防衛医科大学校皮膚科

A. 研究目的

痒疹は急性痒疹、亜急性痒疹、慢性痒疹に分けられる。日本皮膚科学会における診療ガイドラインでは、慢性痒疹として結節性痒疹と多形慢性痒疹の二つをあげ、その概念を定義した。しかし多形慢性痒疹の定義にはいまだあいまいな点があるため皮膚科医によってとらえ方に差を生じている。また診療の現場では結節性痒疹とも多形慢性痒疹ともつけがたい痒疹群を経験する。

B. 方法

慢性に経過する痒疹患者26例についてその臨床病型と検査データ、原因などにつき検討した。

C. 結果

26例の痒疹患者のうち結節性痒疹5例、多形慢性痒疹5例であり、残りの16例はどちらとも分類しがたい症状を呈していた。いずれの痒疹においても悪性腫瘍が誘因と考えられた例は極めて少なかった。分類不能な一群は、蕁麻疹様紅斑を伴って広範囲に病変をみる病型が主体であり、TARC値が他の2型に比して高く、またステロイド全身投与歴のあるものが多かった。

D. 考察

痒疹患者では悪性腫瘍の検索が勧められているが、関連が確認される例は非常に少ないことは注目に値する。また分類不能な痒疹は病変の範囲が広いことや、紅斑性病変が目立っていることに特徴があるが、個疹の反応は多形慢性痒疹に類似している面もある。したがって多形慢性痒疹と病態は同じで、その重症型ないし悪化時の状態を見ている可能性もある。ステロイドの全身投与が表現型の修飾に関与しているかどうか検討が必要である。

E. 結論

分類不能な痒疹の位置づけ、そして多形慢性痒疹の定義と概念については今後検討の余地がある。

