

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591323

研究課題名(和文)

Th2 プロフィールは皮膚バリア機能を改変する-アトピー性皮膚炎増悪の新仮説-

研究課題名(英文)

Th2 profile abrogates cutaneous barrier function. -New insight in the pathogenesis of atopic dermatitis-

研究代表者

波多野 豊 (HATANO YUTAKA)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：80336263

研究成果の概要(和文)：

1. Th2 サイトカインは、バリア機能破壊時に生じる層板顆粒の形成・分泌作用を抑制し、バリア機能修復を阻害する。
2. Th2 サイトカインにより、デスモグレイン1の発現が低下し、角層が剥がれ易くなる。
3. Th2 サイトカインは、表皮における PPAR α の低下を介して、アトピー性皮膚炎におけるバリア機能低下と難治化に関与している可能性が示唆される。

以上より、アトピー性皮膚炎の病態における、アレルギー炎症と皮膚バリア機能異常との相互作用の重要性が示唆され、PPAR α の活性化が、アトピー性皮膚炎における新しい治療戦略のひとつとなる可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：

1. Th2 cytokines inhibit the permeability barrier recovery via reduction of formation and secretion of lamellar bodies.
2. Th2 cytokines abrogate integrity of stratum corneum via reduction of density of corneodesmosomes, which results from inhibitory effects of Th2 cytokines on expression of desmoglein 1.
3. Th2 cytokines reduce the expression of PPAR α in epidermis, resulting in barrier abnormality in atopic dermatitis.

These results suggest that Th2 cytokines are involved in making atopic dermatitis refractory and that activation of PPAR α might be one of the new therapeutic targets in atopic dermatitis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：Th2 サイトカイン・皮膚バリア機能・アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

(1) Th2 サイトカインが、皮膚バリア機能に対して負の方向に作用することが、我々の研究などで明らかとなってきたが、その機序は十分に解明されていない。

(2) 近年の研究で、アトピー性皮膚炎の病態には、バリア機能異常が深く関与することが明らかとなってきたが、これまで、アトピー性皮膚炎の特徴とされる Th2 優位の免疫異常が、アトピー性皮膚炎におけるバリア機能異常にどのように関与するかは明らかとなっていない。

2. 研究の目的

(1) Th2 サイトカインのバリア機能構築・阻害作用の機序解明

(2) アトピー性皮膚炎の難治化における、Th2 サイトカインの関与についての検討

3. 研究の方法

(1) 急性バリア破壊モデル

マウス (C57/BL6) の腹部の毛を剃った後、

経皮的水分蒸散量が 80-100 g/m² になるまでテープストリッピングを行い、角層バリアを破壊した。

(2) マウスへのサイトカインおよび STAT6 デコイの投与

リコンビナントマウス IL-4 及び STAT6 デコイは、マウス (C57/BL6 または Hr-/Kud) の皮内に投与した。

(3) 発現レベルの検討

蛋白レベルは ECLkit を用いたウェスタンブロット法で、mRNA レベルは P³² を用いた半定量的 RT-PCR 法で解析した。

(4) 層板顆粒、コルネオデスモゾームの解析

電子顕微鏡にて観察し、密度を定量化して解析した。

(5) アトピー性皮膚炎様皮膚炎マウスモデルの作成

ヘアレスマウス (Hr-/Kud) を 5% オキサゾロンで感作後、flanks に 0.5% オキサゾロン

ンを隔日で 10 回塗布することにより作成した。

4. 研究成果

(1) Th2 サイトカインによるバリア機能低下作用

①Th2 サイトカインは、STAT6 を介して層板顆粒の形成・分泌を阻害する。

バリア機能が破壊されると、層板顆粒が形成・分泌されるが、Th2 サイトカインである IL-4 はこれを阻害することが明らかとなった。また、IL-4 のバリア回復阻害作用は、STAT6 のデコイを前投与することにより阻害された。これらの成果により、急性バリア破壊後における、Th2 サイトカインのバリア回復阻害作用の機序の一端が明らかとなった。

②Th2 サイトカインは、角層のバリア構造を弱める。

Th2 サイトカインである IL-4 をマウスの皮内に 5 日間投与すると、角層が薄くなること（図 1）と角層が剥がれ易くなることが観察された。その時の、表皮におけるデスモグレイン 1 の発現は低下しており、コルネオデスモゾームの密度も低下（図 2）していた。更に、IL-4 は、培養表皮角化細胞におけるデスモグレイン 1 の発現を低下させた（図 3）。これらの結果は、Th2 サイトカインが、角層の接着性を脆弱化することにより、皮膚のバリア構造に影響を及ぼすことを示唆する。

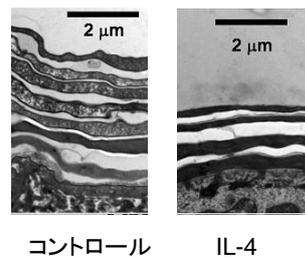


図1 角層の厚さ

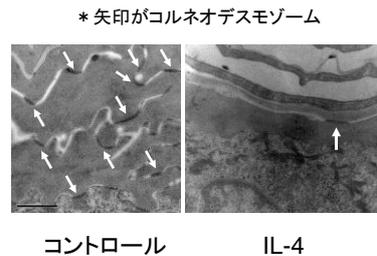


図2 コルネオデスモゾームの密度

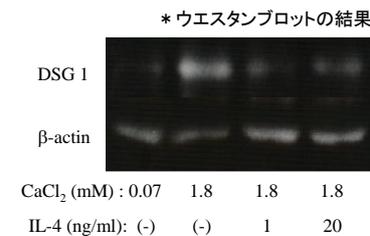


図3 培養角化細胞におけるデスモグレイン1(DSG1)の発現

③Th2 サイトカインは、PPAR α の発現を低下させる。

バリア機能形成、表皮分化において重要な役割を担うと考えられている peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) α の培養表皮角化細胞における発現を検討したところ、TNF- α と IFN- γ の刺激により PPAR α の発現は亢進し、この亢進作用はTh2サイトカインである IL-4により阻害された。この結果は、Th2 サイトカインによるバリア形成機能の低下に PPAR α を介したシグナルが関与している可能性を示唆する。

(2) PPAR α の発現に及ぼす影響を介した、Th2 サイトカインによるアトピー性皮膚炎の難治化

マウスをハプテンであるオキサゾロンで感作した後、2日に1回の頻度で繰り返しオキサゾロンを塗布し、アトピー性皮膚炎様の皮膚炎を惹起させるモデルを構築した。10回以上オキサゾロン塗布を繰り返し、経皮的水分蒸散量の増加と角層水分量の低下を伴い十分にアトピー性皮膚炎のフェノタイプが確立した時点で、表皮を採取し、PPAR α 、PPAR β 、PPAR γ の発現を検討した。mRNA レベルと蛋白レベルの両者において、PPAR α の発現低下を認めた(図4)。一方、PPAR β 、PPAR γ の発現レベルは、コントロールマウスと同等であった。この結果は、アトピー性皮膚炎の病態に、表皮における PPAR α の発現低下が重要な役割を果たしている可能性を示唆する。1の(3)の結果と合せて考えると、Th2 サイトカインは、表皮における PPAR α の発現低下を介して皮膚バリア機能構築において負の方向に作用することによって、アトピー性皮膚炎の発症や難治化に関与している可能性が示唆される。

以上より、Th2 サイトカインは、皮膚バリア機能を脆弱化し、アトピー性皮膚炎の難治化に関与することが示唆された。その際、表皮における PPAR α の発現低下が重要な因子となっている可能性があり、この活性化が、新規治療法の開発に繋がる可能性が示唆された。

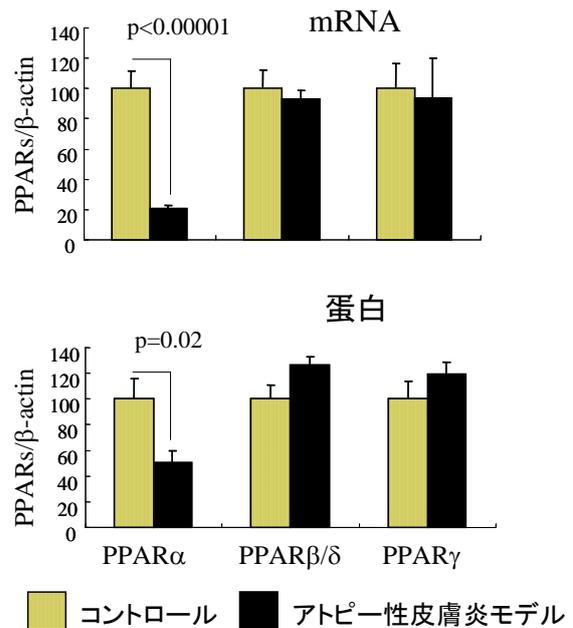


図4 マウスのアトピー性皮膚炎モデルの表皮における、PPARsの発現

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① 波多野豊. 皮膚のバリア機能とアトピー性皮膚炎—Th2・角層pHの重要性及びフィラグリン異常との関係— (総説)
J Environ Dermatol Cutan Allergol. 5巻1号, p11-18, 2011 査読無

[学会発表] (計1件)

- ① Hatano Y, Adachi Y, Fujiwara S. Peroxisome proliferators-activated receptor-alpha as a key molecule on the relationship between cutaneous barrier dysfunction and allergic inflammation. The first annual meeting of Pan Asian-Pacific Skin Barrier Research Society, Dalian, China, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

波多野 豊 (HATANO YUTAKA)

大分大学・医学部・講師
研究者番号：80336263

(2) 研究分担者

片桐 一元 (KATAGIRI KAZUMOTO)
大分大学・医学部・准教授
(現在、獨協医科大学・越谷病院・教授)
研究者番号：00204420