

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21790786
 研究課題名（和文） 皮膚バリア機能障害と喘息発症との関連

研究課題名（英文） Skin barrier dysfunction and asthma

研究代表者

若木 美佐（WAKAKI MISA）
 慶應義塾大学・医学部・共同研究員
 研究者番号：30338032

研究成果の概要（和文）：フィラグリン遺伝子変異などによってもたらされた皮膚のバリア機能障害は経皮抗原感作とその後の全身的なアレルギー疾患の発症を惹起する。経皮感作喘息モデルを作成してその病態を検討したところ、遷延性の気道炎症・気道過敏性亢進をきたした。IL-23p19 ノックアウトマウス、IL-17A ノックアウトマウスを用いた解析を行うことにより、経皮感作によって生じる遷延性気道過敏性亢進は IL-23/IL-17 経路依存性であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Allergen sensitization through a disrupted skin barrier plays a prominent role in the development of atopic diseases, including allergic asthma. The present study has clarified that skin mediated allergen sensitization results in the prolonged airway inflammation and bronchial hyper-responsiveness in IL-23/IL-17 dependent manner.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
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・呼吸器内科学

キーワード：気管支喘息、皮膚バリア、抗原感作、気道過敏性

1. 研究開始当初の背景

抗原の投与方法・経路によってその後の免疫

応答は様々に異なり、免疫寛容をもたらすこともあれば、過剰なアレルギー反応を引き起こすこともある。その中で、我々は皮膚から

の感作（経皮感作）がアレルギー疾患、特に喘息に及ぼす影響に注目した。

数多くの疫学研究およびメタアナリシスから、皮膚のバリア機能に重要な役割を持つフィラグリンの遺伝子変異がアトピー性皮膚炎とそれに続発する喘息の発症に強く関連していることが報告されている。これは、皮膚のバリア機能障害の存在下で、皮膚を介した持続的抗原感作がその後の全身的なアレルギー疾患の発症を惹起している可能性を強く示唆しているが、それを直接的に証明した研究はない。

経皮感作から気道炎症に至る詳細なメカニズムについても、いまだに明らかにされていない。経皮的な抗原感作においては血中 IL-17 濃度が増加することが報告されており、IL-17 が経皮感作から気道炎症への進展に関与する可能性が示唆されている。しかし、IL-17 ノックアウトマウスを用いて腹腔内感作を行った検討では、IL-17 の関与については一定した結果が得られていない。

2. 研究の目的

経皮的な抗原感作から気管支喘息の発症にいたるメカニズムを明らかにすることを目的として経皮感作喘息モデルを作成し、IL-17、IL-23 ノックアウトマウスなどを用いて病態への影響を検討する。

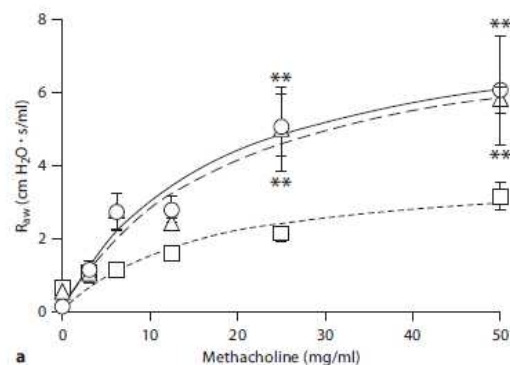
2. 研究の方法

C57BL/6 マウスあるいは Balb/c マウスの背部に卵白アルブミン（OVA）を浸透させたパッチを貼付（3日間/週）し、3週間感作した。その後2% OVA エアロゾルを4日間吸入曝露し、最終曝露翌日から2週間にわたって、呼吸機能測定（flexiVent）、採血、気管支肺

胞洗浄を行った。対照群として OVA とアラムを腹腔内投与し感作したマウスについて同様の検討を行った。

4. 研究成果

従来のマウス喘息モデルでは抗原をハプテンとともに全身投与しなければ感作が成立しないが、C57BL/6 マウスを用いた場合、経皮抗原感作ではハプテンなしでも、感作の強度に応じた Th2 型免疫応答と、それに続く好酸球性気道炎症、気道過敏性亢進をきたすことを確認した（図1）。一方、抗原（OVA）特異的 IgG1 の産生はアラムと OVA を用いて腹腔内感作を行った場合の方が有意に増強していた。また、経皮感作による好酸球性気道炎症・気道過敏性亢進は Balb/c マウスにおいてアラムを用いた腹腔内感作では C57BL/6 マウスとほぼ同程度に誘導されたが、経皮感作によって誘導される気道炎症・気道過敏性亢進は Balb/c マウスでは比較的弱かった。そのため、以後の検討は C57BL/6 マウスを用いて行った。



腹腔内にアラムとともに抗原（OVA）を投与して感作したマウス（、実線）と、アジュバントを用いず抗原のみを経皮的に感作したマウス（、破線）とでほぼ同等の気道過敏性が観察される。

その後の検討によりハプテンを用いた腹腔内感作では抗原暴露 1 週後には気道炎症、気道過敏性亢進が減弱するが、経皮感作では抗原暴露後 1 - 2 週間持続する遷延性好酸球性気道炎症・気道過敏性亢進が生じることが明らかとなった。特に気道過敏性亢進は抗原暴露 2 週間後も亢進が認められた。これらの結果から、皮膚バリアを維持して経皮的な抗原の侵入を回避することで喘息の慢性化・重症化を予防できる可能性が示唆された。

経皮感作によって生じる遷延性の好酸球性気道炎症と気道過敏性亢進に関する因子を明らかにすることを目的として IL-23p19 ノックアウトマウスと IL-17A ノックアウトマウスを用いて、経皮感作による気道過敏性と気道炎症がどのような影響を受けるかを検討した。その結果、IL-23p19 ノックアウトマウス、IL-17A ノックアウトマウスにおいては、野生型マウスと比較して抗原気道曝露翌日に生じる気道炎症、気道過敏性には違いがないこと、しかし、野生型マウスと異なり抗原曝露 7-14 日目には気道炎症、気道過敏性が低下することを見いだした。

このことから、経皮感作によって生じる喘息の慢性化・重症化の予防・治療に IL-23/IL-17 経路の阻害が有効である可能性が示唆された。現在、更に抗 IL-23 中和抗体を用いてその有効性を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. M. Kodama, K. Asano, T. Oguma, S. Kagawa, K. Tomomatsu, M. Wakaki, T. Takihara, S. Ueda, N. Ohmori, H. Ogura, J. Miyata, K. Tanaka, N. Kamiishi, K. Fukunaga, K. Sayama, E. Ikeda, T. Miyasho, A. Ishizaka. Strain-specific phenotypes of airway inflammation and

bronchial hyperresponsiveness induced by epicutaneous allergen sensitisation in BALB/c and C57BL/6 mice.

Int Arch Allergy Immunol 152 Suppl1: 67-74, 2010 (査読有り)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. K Asano, M Kodama, M Wakaki, S Kagawa, T Oguma, K Fukunaga, Y Suzuki, K Sayama, D Cua. Prolonged airway inflammation and responsiveness in mice sensitized via the skin is IL-23 dependent. ATS 2011 International Conference, Denver, USA, 2011. 5. 16
2. 樹神元博、鈴木雄介、小熊剛、若木美佐、加川志津子、加畑宏樹、上石修史、田中希宇人、宮田純、小倉裕美、友松克允、福永興壺、佐山宏一、浅野浩一郎経皮抗原感作による遷延性気道炎症・過敏性亢進と IL-17/IL-23 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会 東京, 2011. 4. 22
3. 樹神元博、小熊剛、加川志津子、加畑宏樹、上石修史、田中希宇人、宮田純、小倉裕美、友松克允、若木美佐、塩見哲也、福永興壺、佐山宏一、浅野浩一郎 経皮抗原感作マウスにおける気道炎症と気道過敏性亢進の遷延 第 60 回日本アレルギー学会総会, 東京, 2010. 11. 25
4. 樹神元博、浅野浩一郎、小熊剛、加川志津子、若木美佐、友松克允、小倉裕美、宮田純、堀内奈緒、上田壮一郎、佐山宏一、石坂彰敏 経皮抗原感作喘息モデルマウスの検討 アレルギー好酸球研究会 2009, 東京, 2009. 6. 19
5. 樹神元博、浅野浩一郎、小熊剛、加川志津子、宮田純、小倉裕美、友松克允、堀内奈緒、上田壮一郎、滝原崇久、加行淳子、新美京子、若木美佐、福永興壺、佐山宏一、石坂彰敏 経皮抗原感作喘息モ

デルマウスの作成 第 49 回日本呼吸器
学会総会, 東京, 2009. 6. 12

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
特になし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

若木 美佐 (WAKAKI MISA)
慶應義塾大学・医学部・共同研究員
研究者番号 : 30338032