

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591649

研究課題名(和文) PPAR の活性化は、皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症の悪循環を断つ

研究課題名(英文) Activation of PPARalpha abrogates the vicious cycle between cutaneous barrier dysfunction and allergic inflammation

研究代表者

波多野 豊 (Hatano, Yutaka)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：80336263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：PPAR 遺伝子をsiRNAを用いてノックダウンした培養表皮角化細胞では、アトピー性皮膚炎(以下、AD)の病態で重要なケモカインであるTARCとRANTESの発現が亢進し、バリア機能において重要なロリクリンとトランスグルタミナーゼ1の発現が低下することを見出した。更に、PPAR の合成アゴニストの添加により、表皮角化細胞におけるTARCとRANTESの発現は低下し、ADにおいて低下しているフィラグリンの発現は亢進した。PPAR の発現低下は、ADの病態における皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症の両側面に同時に関与し、その活性化は、両側面を同時に標的とする治療法となり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Expressions of TARC and RANTES in epidermal keratinocytes, which are important chemokines in the pathogenesis of atopic dermatitis (AD), were up-regulated by knockdown of PPARalpha. On the other hands, expressions of loricrin and transglutaminase 1, which are important epidermal differentiation-related molecules, were down-regulated in PPARalpha-knockdown epidermal keratinocytes. In addition, a PPAR alpha agonist down-regulated the expressions of TARC and RANTES and up-regulated those of filaggrin, which is known to be decreased in AD, respectively in epidermal keratinocytes. These results suggest not only that reduction of PPARalpha is involved in both of cutaneous barrier abnormalities and allergic inflammation in the pathogenesis of AD but also that activation of PPARalpha might be a new therapeutic strategy which targets the both aspects in AD.

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：PPARalpha アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

(1) アレルギー性炎症が皮膚バリア機能に対し負の作用を有する一方、皮膚バリア機能異常がアレルギー性炎症の発症・重症化に重要な役割を果たし、皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症が相互に関係し合いながらアトピー性皮膚炎(以下、AD)の病態を形成していると考えられる。我々は、この皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症の悪循環が、ADの特徴的な臨床像である「繰り返される難治な湿疹」に深く関与し、そのメカニズムの解明が、AD病態の理解と新しい治療戦略の構築に繋がるものと考えた。

(2) Peroxisome proliferators activated receptors (以下 PPAR) は、核内ホルモン受容体に属し、種々の生体反応の転写因子として注目されており、PPAR α 、PPAR β/δ 、及び PPAR γ の3つのサブタイプを有する。皮膚においては、これらの受容体からのシグナルが、皮膚バリア機能に対し正の方向に作用するだけでなく、皮膚炎の発症を抑制することが徐々に明らかにされて来た。ADとの関連では、AD患者の皮膚では PPAR γ の発現が低下していることが明らかとなっている。また、我々は、PPAR γ や PPAR β/δ の幾つかのリガンドの塗布が、ADのモデルマウスでは、アレルギー性炎症と皮膚バリア機能異常の両側面において治療効果を示すことを明らかにした。これらの知見から、我々は、幾つかの PPARs は、ADにおける皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症に同時に関与し得る重要な因子であると考えた。

(3) ADのモデルマウスの表皮では、3つのサブタイプのうち、PPAR γ の発現のみが低下していた。更に3つのサブタイプのうち、表皮角化細胞における PPAR γ の発現のみが透過性バリア機能破壊刺激と Th2 サイトカインの両者から負の影響を受けた。これらの知見は、PPARsのうち特に PPAR γ の発現低下が、皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症との相互関係において重要な役割を果たし、その制御が皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症とを同時に標的とする治療法となる可能性を示唆する

2. 研究の目的

表皮角化細胞に存在する PPAR γ が、アレルギー性炎症と皮膚バリア機能異常の両側面間の悪循環の形成に関与する因子であるとの仮説を立て、ADの病態におけるその重要性を明らかにし、皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症とを同時に標的とした新しい治療法の構築に寄与することを目的とする。

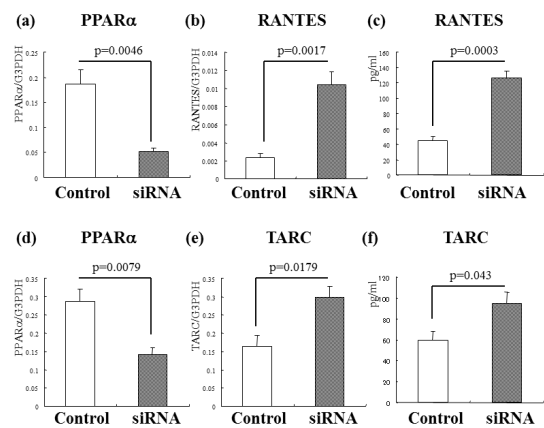
3. 研究の方法

(1) 培養表皮角化細胞における PPAR γ の発現を siRNA を用いてノックダウンし、ノックダウンされた表皮角化細胞の機能変化をアレルギー性炎症関連因子と皮膚バリア機能関連因子の両面から解析した。分子の発

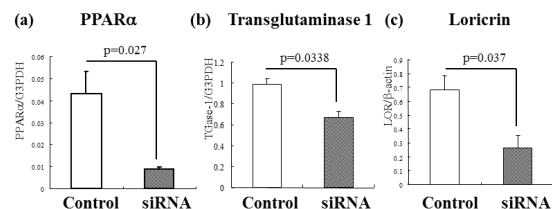
現レベルは、半定量的 RT-PCR 法、ウェスタンブロット法または ELISA 法にて解析した。
(2) 培養表皮角化細胞におけるアレルギー性炎症関連因子及び皮膚バリア機能関連因子の発現における PPAR γ の合成アゴニストの影響を検討する。発現量は、半定量的 RT-PCR 法にて解析した。

4. 研究成果

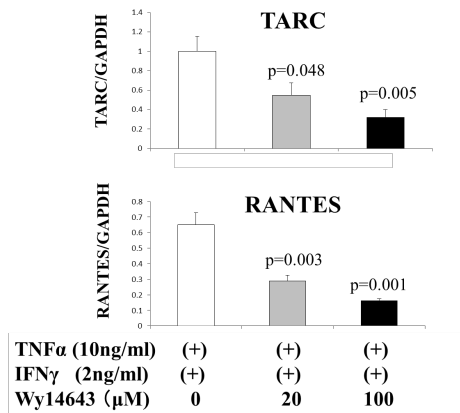
(1) PPAR γ の発現をノックダウンされた培養表皮角化細胞では、ADの病変部で産生が亢進していることが知られているケモカインである RANTES と TARC の発現・産生が亢進した。(a, b, d, e は半定量的 RT-PCR 法による mRNA レベル、c, f は、ELISA 法による培養上清中の蛋白レベル)



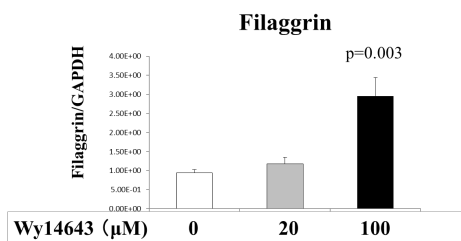
(2) PPAR γ の発現をノックダウンされた培養表皮角化細胞では、ADの病変部で低下していることが報告されており、皮膚バリア機能構築において重要な分化関連分子のひとつであるロリクリン Loricrin と、皮膚バリア機能構築において重要な構造物である周辺帯の形成において重要な酵素である Transglutaminase 1 の発現が低下した。(a, b は半定量的 RT-PCR 法による mRNA レベル、c は、ウェスタンブロット法による蛋白レベル)



(3) PPAR γ の合成アゴニストである Wy14643 は、培養表皮角化細胞における TARC と RANTES の発現を濃度依存性に抑制した。TARC と RANTES を TNF α と IFN γ で誘導する実験系で解析した。(p 値は、Wy14643 の非添加群との比較)



(4) PPAR の合成アゴニストである Wy14643 は、培養表皮角化細胞における Filaggrin の発現を濃度依存性に抑制した。Filaggrin は皮膚バリア機能において重要な分化関連蛋白と考えられており、AD 患者の皮膚では、遺伝的或いは炎症などによる非遺伝的に発現が低下していることが知られている。(p 値は、Wy14643 の非添加群との比較)

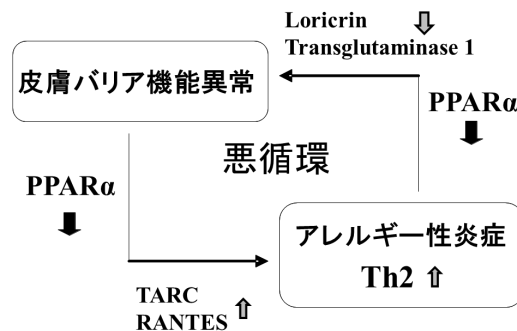


(5) まとめと今後の展望

以上の結果から、表皮角化細胞における PPAR の低下は、AD の病態における皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症の両側面に同時に参与し得ることが示唆された。興味深いことに、我々は、表皮角化細胞における PPAR の発現が、透過性バリア機能障害や Th2 サイトカインによって低下し得ることを見出している。これらの知見は、表皮角化細胞における PPAR の低下が、皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症の悪循環に関与していることを示唆する。

PPAR の合成アゴニストが、表皮角化細胞における TARC や RANTES の発現を抑制し、Loricrin や Transglutaminase 1 の発現を増強したことは、PPAR の合成アゴニストが、アレルギー性炎症と皮膚バリア機能異常の両側面を同時に制御し得る治療戦略に寄与する可能性を示唆する。

アトピー性皮膚炎の病態における PPAR α の低下を介した皮膚バリア機能異常とアレルギー性炎症との悪循環 (仮説)



表皮角化細胞における PPAR の低下の AD の病態における意義について更に検証を加える必要がある。培養表皮角化細胞を用いた検討では、より生体の条件に近い、3 次元培養系での解析を予定している。更に、表皮角化細胞特異的 PPAR 欠損マウスを作成し詳細に検討する予定である。

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5件)

Adachi Y, Hatano Y, Sakai T, Fujiwara S: Expressions of PPARs are directly influenced by permeability barrier abrogation and inflammatory cytokines and depressed PPAR modulates expressions of chemokines and epidermal differentiation-related molecules in keratinocytes. *Exp Dermatol*, 22(9), 606-8, 2013. (doi: 10.1111/exd.12208) 査読有

波多野豊: 皮膚バリア機能とその障害メカニズム. *アレルギー・免疫*, 20(6), 836-844, 2013. 査読有

波多野豊: 表皮角化細胞が担う皮膚バリア機能とその障害メカニズム. *西日皮*, 75(5), 399-405, 2013. 査読有

Hatano Y: Skin barrier abnormalities in atopic dermatitis: Cross talk with allergic inflammation. *J Skin Barrier Res*. 2012 Oct;14(2):13-19. 査読無

波多野豊: 皮膚バリア機能異常と炎症のクロストークの場としてのケラチノサイト. *日皮会誌*, 122(13), 3277 - 3279, 2012. 査読無

〔学会発表〕(計4件)

波多野豊：アトピー性皮膚炎の病態と治療におけるリポセンサー(シンポジウム).
第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会,
11月10日,鹿児島市,2013.

波多野豊：皮膚バリアと炎症のクロストークの場としてのケラチノサイト(教育講演).
第111回日本皮膚科学会総会,6月2日,京都市,2012.

Hatano Y: Skin barrier abnormalities in atopic dermatitis-Cross talk with allergic inflammation ~. The 2012 Annual Meeting of the Korean Society for Skin Barrier Research, October 16, 2012, Seoul (招請講演)

Adachi Y, Hatano Y, Sakai T, Fujiwara S: Depressed PPARalpha accelerates a vicious cycle between allergic inflammation and barrier dysfunction. The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, December 8, Okinawa, 2012

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等 無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

波多野 豊 (HATANO Yutaka)
大分大学・医学部皮膚科・准教授
研究者番号: 80336263

(2) 研究分担者 無し

()

研究者番号:

(3) 連携研究者 無し
()

研究者番号: