

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791157

研究課題名(和文) Th2環境で誘導されるカリクレイン7の過剰発現が表皮バリアに与える影響

研究課題名(英文) The effect of aberrant expression of kallikrein 7 induced by Th2 cytokines on epidermal barrier

研究代表者

森実 真 (Morizane, Shin)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：80423333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：正常表皮角化細胞においてTNF-aとIL-17Aはセリンプロテアーゼ阻害因子LEKT1, SLPI, エラフィンの発現を有意に増強させることが明らかになった。LEKT1の発現は乾癬病変部で著明に増強している一方で、アトピー性皮膚炎病変部では正常皮膚と同レベル程度しか認めなかった。ハプテン繰り返し投与のTh2依存性皮膚炎マウスモデル(アトピー性皮膚炎モデル)においてセリンプロテアーゼ阻害剤が与える影響について検証したが、コントロール群と比較して有意な差はみられなかった。

研究成果の概要(英文)：TNF-alpha and IL-17A significantly up-regulated the expression of LEKT1, SLPI, and elafin in cultured normal human epidermal keratinocytes. Immunohistochemical analysis confirmed LEKT1 expression in atopic dermatitis lesions was almost same as in normal skin, but it was significantly higher in psoriasis lesions than in atopic dermatitis lesions. Topical application of serine protease inhibitors such as benzamidine did not significantly improve the skin in lesions in a mouse model of Th2-dependent dermatitis.

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：アトピー性皮膚炎 セリンプロテアーゼ

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎は慢性の湿疹病変を主体とするアレルギー性の皮膚疾患で、遺伝的素因に基づく多病因性の疾患であり、現時点で疾患そのものを完治させる治療法はないため対症療法で日常診療が行われている。アトピー性皮膚炎の病態機序には大きく分けて二つの要素が関与している。一つは皮膚表層の表皮角化細胞層におけるバリア機能の低下と皮膚の乾燥であり、他方は Th2 サイトカインを主体とする様々なサイトカイン・ケモカインによる全身性の炎症反応である。

セリンプロテアーゼであるカリクレインは表皮角層の剥離を促すことが知られており、過剰なカリクレインの発現は表皮のバリア機能に影響を与える。我々は表皮角化細胞におけるカリクレインの制御機構について研究する過程で Th2 サイトカインがカリクレイン7の発現を誘導することを見出した。その一方でカリクレイン7の制御因子である LEKTI, SLPI, エラフィンの発現制御機構はあまり詳細に検討されていない。

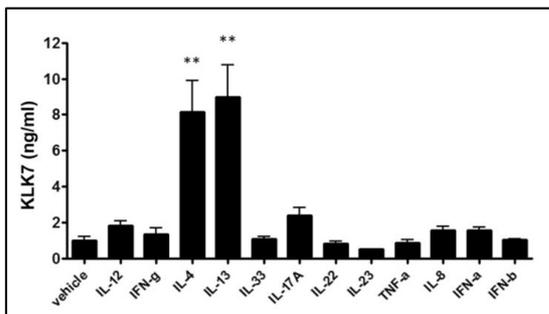


図1 Th2 サイトカインは正常表皮角化細胞において KLK7 の発現を増強する。(Morizane et al., *J Allergy Clin Immunol*, 2012)

2. 研究の目的

本研究では表皮角化細胞におけるセリンプロテアーゼ制御因子 LEKTI, SLPI, エラフィンの発現制御機構を解明すると共に、TH2 依存性皮膚炎マウスモデル(アトピー性皮膚炎モデル)においてセリンプロテアーゼ阻害剤が与える影響を調べることを目的としている。

3. 研究の方法

正常表皮角化細胞を炎症性サイトカインで刺激した後、LEKTI, SLPI, エラフィンの誘導のパターンをリアルタイム PCR と ELISA を用いて解析する。

慢性皮膚炎症性疾患であるアトピー性皮膚炎と乾癬病変部における LEKTI の発現について免疫組織学的に検討した。

1%TNCB 溶液にて感作後、同液を2日おきに同側の耳に12回塗布し、その後1日2回

ベンズアミジン, 4-(2-Aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride hydrochloride (AEBSF), ロイペプチン, Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) を外用塗布した。0、24、48、96 時間後に耳介の厚さを測定した。

4. 研究成果

正常表皮角化細胞において TNF- α と IL-17A がセリンプロテアーゼ阻害因子 LEKTI, SLPI, エラフィンの発現を有意に増強させることが明らかになった。

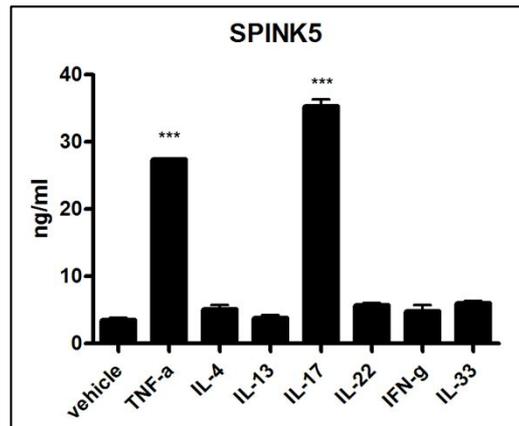


図2 正常表皮角化細胞において TNF- α と IL-17A は LEKTI(SPINK5)の発現を増強する。

また、慢性皮膚炎症性疾患であるアトピー性皮膚炎と乾癬病変部における LEKTI の発現について免疫組織学的に検討したところ、興味深いことに LEKTI の発現は乾癬病変部で著明に増強している一方で、アトピー性皮膚炎病変部では正常皮膚と同レベル程度しか認めなかった。TNF- α と IL-17A は乾癬病変部で高発現しているため、慢性皮膚炎症性疾患であるアトピー性皮膚炎と乾癬病変部における LEKTI の発現の差に関与している可能性がある。

さらに我々はハプテン繰り返し投与の Th2 依存性皮膚炎マウスモデル(アトピー性皮膚炎モデル)においてセリンプロテアーゼ阻害剤が与える影響について検証した。ベンズアミジン, 4-(2-Aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride hydrochloride (AEBSF), ロイペプチン, Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) を外用塗布したが0、24、48、96 時間後に耳介の厚さを測定したがコントロール群と比較して有意な差はみられなかった。

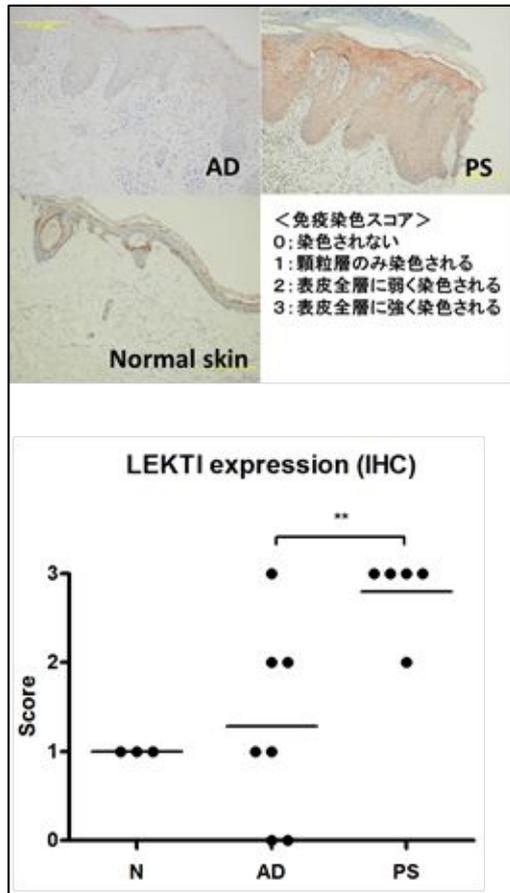


図3 正常皮膚(N) AD および乾癬(PS)病変部におけるLEKTIの発現を免疫組織学的に検討した。

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4件)

森実真, Th2 サイトカインはアトピー性皮膚炎患者におけるカリクレイン7の発現と機能を増強する岡山医学会雑誌(0030-1558)125巻3号 Page217-220(2013.12)査読なし

森実真, 【アトピー性皮膚炎の発症とバリア機能】皮膚の炎症と表皮バリア機能(解説/特集)アレルギーの臨床(0285-6379)33巻2号 Page142-146(2013.02)査読なし

Morizane S, Yamasaki K, Kajita A, Ikeda K, Zhan M, Aoyama Y, Gallo RL, Iwatsuki K. TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Jul;130(1):259-61. 査読あり

H Nagase, Y Nakachi, K Ishida, M Kiniwa, S Takeuchi, I Katayama, Y Matsumoto, F

Furukawa, S Morizane, S Kaneko, Y Tokura, M Takenaka, Y Hatano and Y Miyachi IL-4 and IL-12 Polymorphisms are Associated with Response to Suplatast Tosilate, a Th2 Cytokine Inhibitor, in Patients with Atopic Dermatitis *The Open Dermatology Journal.* 2012;6:42-50. 査読あり

[学会発表](計4件)

S. Morizane, K. Iwatsuki. Inflammatory cytokines regulate expression of lympho-epithelial Kazal-type-related inhibitor in epidermal keratinocytes. 5th International Symposium on Kallikreins and Kallikrein-Related Peptidases. 2013.9.28-2013.10.1, トロント, カナダ

森実真, アトピー性皮膚炎の治療を考える～TSLPの発現に与える影響～. 第10回小児皮膚・疾患フォーラム, 2013.06.26, 岡山

森実真, Th2 サイトカインはアトピー性皮膚炎患者におけるカリクレイン7の発現と機能を増強する. 第112回岡山医学会総会(招待講演)2013.6.1, 岡山

K Ikeda, S Morizane, Y Aoyama, K Iwatsuki, Clinical treatments for atopic dermatitis modulate thymic stromal lymphopoietin expression in keratinocytes. The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2012.12.7-2012.12.09, Okinawa, Japan

[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

6. 研究組織

(1)研究代表者

森実 真 (MORIZANE SHIN)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：80423333

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：