

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 4 月 21 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：平成 21 年度 ～平成 23 年度

課題番号：21591472

研究課題名（和文） 血小板を介する皮膚の炎症反応の制御・収束機構の解明

研究課題名（英文） Role of platelet in regulation of cutaneous inflammation.

研究代表者

加藤 則人 (KATOH NORITO)

京都府立医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：30244578

研究成果の概要（和文）：

・皮膚炎の進展にともなう白血球の皮膚組織への浸潤動態と機能への血小板の役割

血小板減少マウスと血小板正常マウスにおいて、ハプテンによる接触皮膚炎の惹起後、経時的に皮膚組織への白血球の浸潤動態をレーザー顕微鏡や二光子顕微鏡による in vivo imaging を用いて比較検討を行ったところ、惹起から4時間後には血管内において血小板が活性化するとともに白血球と複合体を形成すること、白血球とともに組織に遊走すると、速やかに白血球内に取り込まれ、核周囲にみられることが明らかになった。また、CD11b+Gr-1+の白血球の浸潤も血小板減少マウスでは減少しており、皮膚炎の制御に関わる細胞の皮膚への遊走にも血小板が大きな役割を有していることが推測された。

・皮膚炎に伴う皮膚組織での樹状細胞の減少に続く再分布における血小板の役割

血小板減少マウスでは、接触皮膚炎惹起後の皮膚組織への樹状細胞の再分布が著しく減少していることが、詳細な検討から明らかになった。表皮の樹状細胞であるランゲルハンス細胞は、感作に関して抑制的に作用する可能性が示唆されており、その樹状細胞の組織への分布に血小板が重要な役割を演じている事象の発見は、血小板が皮膚炎の制御において重要であることをまったく新しい側面から理解する上で重要な知見と考えられる。

これらのことから、接触皮膚炎において、血小板は皮膚炎の惹起や制御に重要な細胞の組織への遊走に重要な役割を有し、炎症の惹起とともに収束にも関与していることが推測された。

研究成果の概要（英文）：

1) Role of platelets in contact hypersensitivity reaction: Mice were sensitized and elicited in ears with haptens, with or without platelet depletion, by administering antiplatelet antibody or busulfan. In vivo imaging demonstrated that platelets were activated, formed complex with leukocytes and engulfed into the cytoplasm of the leukocytes in the capillary within 2 hours after elicitation. We showed that platelets play important role in migration of CD11b+Gr-1+ leukocytes which regulated inflammatory reaction in cutaneous tissue.

2) We showed that platelets play important roles in redistribution of dendritic cells including epidermal Langerhans cells which may have regulatory function in sensitization to the skin tissue.

Taken together, we show that platelets have regulatory roles in cutaneous inflammation by helping migration of cells with regulatory function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,300,000	390,000	1,690,000
22年度	1,110,000	330,000	1,430,000
23年度	1,110,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：皮膚炎症・再生学

1. 研究開始当初の背景

血小板は、止血に不可欠だけでなく、さまざまなケモカインや成長因子、サイトカインなどを細胞質内に多量に有しており、活性化に伴うこれらの物質の遊離などによって、炎症反応においても重要な役割を有することが次第に明らかにされてきたが、皮膚の炎症反応における血小板の役割については、これまでほとんど検討がなされていなかった。

2. 研究の目的

ハプテン繰り返し塗布によるアトピー性皮膚炎モデルマウスの血小板を抗血小板抗体などで減少させるモデルを用いて、平成21年度は、皮膚炎の進展にともなう脾臓、皮膚組織での未熟ミエロイド細胞の動態の解析、未熟ミエロイド細胞の皮膚組織への浸潤機構と血小板が遊離するケモカインの役割、さらには未熟ミエロイド細胞のT細胞活性抑制作用に血小板が何らかの影響を与えている可能性について検討する。また、活性化血小板が遊離するサイトカインや成長因子などが、骨髄細胞から未熟ミエロイド細胞への分化におよぼす影響についても検討する。平成22年度は、皮膚炎の進展にともなう制御性T細胞の皮膚組織への浸潤動態と機能への血小板の役割について、特に血小板が皮膚組織で遊離するケモカインに着目して検討を行う。また、活性化血小板が遊離する物質が樹状細胞の分化と機能におよぼす影響について、特にトランス誘導能に着目して、詳細に検討する。平成23年度は、皮膚炎の進展に伴う皮膚組織へのマクロファージの遊走とリンパ管内皮細胞への分化における血小板の役割について、in vivo, ex vivo の系で解析する。

本研究は、これまで検討がなされていないアレルギー性皮膚炎の進展に伴う血小板を介する免疫制御・収束の機構に関して詳細に検討することによって、生体が有する免疫・

炎症制御機構の研究に新たな展開をもたらすとともに、それを応用した新規治療法の開発に貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

ハプテンの繰り返し塗布によるアトピー性皮膚炎モデルマウス(以下、アトピーマウス)の血小板を抗血小板抗体やブスルファンを投与することで末梢血中の血小板数を1000個/μl程度まで減少させるモデル(以下、血小板減少アトピーマウス)を用いて皮膚炎の進展にともなう①未熟ミエロイド細胞への分化と動態や機能、②制御性T細胞の動態と制御性樹状細胞への分化、③皮膚組織でのマクロファージからリンパ管内皮細胞への分化における、血小板の役割を、主に in vivo, ex vivo で詳細に解析する。

4. 研究成果

・皮膚炎の進展にともなう白血球の皮膚組織への浸潤動態と機能への血小板の役割
血小板減少マウスと血小板正常マウスにおいて、ハプテンによる接触皮膚炎の惹起後、経時的に皮膚組織への白血球の浸潤動態をレーザー顕微鏡や二光子顕微鏡による in vivo imaging を用いて比較検討を行ったところ、惹起から4時間後には血管内において血小板が活性化するとともに白血球と複合体を形成すること、白血球とともに組織に遊走すると、速やかに白血球内に取り込まれ、核周囲にみられることが明らかになった。また、CD11b+Gr-1+の白血球の浸潤も血小板減少マウスでは減少しており、皮膚炎の制御に関わる細胞の皮膚への遊走にも血小板が大きな役割を有していることが推測された。

・皮膚炎に伴う皮膚組織での樹状細胞の減少に続く再分布における血小板の役割
血小板減少マウスでは、接触皮膚炎惹起

後の皮膚組織への樹状細胞の再分布が著しく減少していることが、詳細な検討から明らかになった。表皮の樹状細胞であるランゲルハンス細胞は、感作に関して抑制的に作用する可能性が示唆されており、その樹状細胞の組織への分布に血小板が重要な役割を演じている事象の発見は、血小板が皮膚炎の制御において重要であることをまったく新しい側面から理解する上で重要な知見と考えられる。

これらのことから、接触皮膚炎において、血小板は皮膚炎の惹起や制御に重要な細胞の組織への遊走に重要な役割を有し、炎症の惹起とともに収束にも関与していることが推測された。

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 20 件)

1. Kotani, H, Masuda K, Tamagawa- Mineoka R, Soga, F, Nin M, Asai J, Kishimoto S, Katoh N. Increased plasma LIGHT levels in patients with atopic dermatitis. Clin Exp Immunol (in press)
2. Mihara K, Shindo H, Mihara H, Ohtani M, Nagasaki K, Katoh N. Early depth assessment of local burns: a new front of dermoscopic evaluation. Arch Dermatol (Epub ahead of print)
3. Ozawa A, Nomiya T, Nakai A, Hartmann G, Takenaka H, Kishimoto S, Katoh N. Immunohistological analysis of in-transit metastasis in a patient with advanced melanoma treated with combination therapy of CpG oligodeoxynucleotide, dacarbazine, and interferon beta: a case report. J Dermatol (Epub ahead of print)
4. Nishimura Y, Ii M, Qin, G, Hamada H, Asai J, Takenaka H, Sekiguchi H, Renault MA, Jujo, K, Katoh N, Kishimoto S, Ito A, Kamide C, Kenny J, Millay M, Misener S, Thorne T, Losordo DW. CXCR4 antagonist AMD3100 accelerates impaired wound healing in diabetic mice. J Invest Dermatol 132; 711-720, 2012.
5. Mihara K, Shindo H, Mihara H, Ohtani M, Nagasaki K, Katoh N. Early depth assessment of local burns by videomicroscopy: novel proposed classification. Burns 38; 371-377, 2012.
6. Tamagawa-Mineoka R, Kishida T, Mazda O, Katoh N. IL-21 reduces immediate hypersensitivity reactions in mouse skin by suppressing mast cell activation or IgE production. J Invest Dermatol 131: 1513-20, 2011.
7. Mihara K, Shindo H, Ohtani M, Nagasaki K, Nakashima R, Katoh N, Kishimoto S. Early depth assessment of local burns by videomicroscopy -24 hr after injury is a critical time point-. Burns 37: 986-93, 2011.
8. Nakai N, Hartmann G, Kishimoto S, Katoh N. Dendritic cell vaccination in human melanoma: relationships between clinical effects and vaccine parameters. Pigment Cell Melanoma Res 23: 607-619, 2010.
9. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Kishimoto S. Platelet activation in patients with psoriasis: increased plasma levels of platelet-derived microparticles and soluble P-selectin. J Am Acad Dermatol 62: 621-626, 2010.
10. Nakai N, Kishida T, Hartmann G, Katoh N, Imanishi J, Kishimoto S, Mazda O. IL-12 gene transfer cooperates with Mitf silencing to inhibit melanoma in mice. Int Immunopharmacol 10; 540-545, 2010.
11. Kitagawa T, Matsuda KI, Inui S, Takenaka H, Katoh N, Itami S, Kishimoto S, Kawata M. Keratinocyte growth inhibition through

- the modification of Wnt signaling by androgen in balding dermal papilla cells. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 1288-1294, 2009.
12. Wakamori T, Katoh N, Hirano S, Kishimoto S, Ozasa K. Atopic dermatitis, dry skin and serum IgE in children in a community in Japan. *Int Arch Allergy Immunol* 149: 103-110, 2009.
 13. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Ueda E, Masuda K, and Kishimoto S. Platelet-derived microparticles and soluble P-selectin as platelet activation markers in patients with atopic dermatitis. *Clin Immunol* 131: 495-500, 2009.
 14. Tamagawa-Mineoka R, Katoh N, Kishimoto S. Platelets play important roles in the late phase of the immediate hypersensitivity reaction. *J Allergy Clin Immunol* 123: 581-587, 2009.
 15. Matsuda A, Okayama Y, Terai N, Yokoi N, Ebihara N, Tanioka H, Kawasaki S, Inatomi T, Katoh N, Ueda E, Hamuro J, Murakami A, Kinoshita S. The role of IL-33 in chronic allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50: 4646-52, 2009.
 16. Nin M, Katoh N, Kokura S, Handa O, Yoshikawa T, Kishimoto S. Dichotomous effect of ultraviolet B on the expression of corneodesmosomal enzymes in human epidermal keratinocytes. *J Dermatol Sci* 54: 17-24, 2009.
 17. Nakai N, Katoh N, Kitagawa T, Ueda E, Takenaka H, Kishimoto S. Immunoregulatory T cells in the peripheral blood of melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cell vaccination. *J Dermatol Sci* 2009; 54: 31-7.
 18. Nakai N, Katoh N, Germeraad WT, Kishida T, Ueda E, Takenaka H, Mazda O, Kishimoto S. Immunohistological analysis of peptide-induced delayed-type hypersensitivity in advanced melanoma patients treated with melanoma antigen-pulsed mature monocyte-derived dendritic cell vaccination. *J Dermatol Sci* 2009; 53: 40-7.
 19. Katoh N. Platelet as versatile regulators of cutaneous inflammation. *J Dermatol Sci* 53: 89-95, 2009.
 20. Katoh N. Future perspectives in the treatment of atopic dermatitis. *J Dermatol* 36: 367-376.
- [学会発表] (計 20 件)
1. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療効果を高めるコミュニケーションのコツ. 第 41 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会ランチョンセミナー. 2011.7.17. 山梨県甲府市.
 2. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療のゴールと抗ヒスタミン薬の役割. 日本皮膚科学会中部支部学術大会ランチョンセミナー. 2011.11.19. 三重県四日市市.
 3. 加藤則人. アトピー性皮膚炎 2011. 第 23 回日本アレルギー学会春期臨床大会. 臨床アップデート *Allergy: Year in review*. 2011.5.14. 千葉市.
 4. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の病態と血小板. 第 41 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. シンポジウム アトピー性皮膚炎 Up date. 2011.7.17. 山梨県甲府市.
 5. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の治療ガイドラインと正しい治療. 第 109 回日本皮

- 膚科学会総会. 教育講演. 2010.4.16. 大阪市.
6. 加藤則人 アトピー性皮膚炎の病態と治療-最近の話題. 日本皮膚科学会中部支部企画研修講習会. 2010.9.10. 大阪市.
 7. 加藤則人. 乾癬の治療と生物学的製剤. 第 62 回日本皮膚科学会西部支部学術大会. ランチョンセミナー. 2010.10.24. 倉敷市.
 8. 加藤則人. アトピー性皮膚炎の疫学-予後を中心に-. 第 22 回日本アレルギー学会春期臨床大会. シンポジウム アレルギー性疾患の疫学-予後を中心に-. 2010.5.9. 京都市.
 9. 加藤則人. 小児アトピー性皮膚炎の疫学. 第 22 回日本アレルギー学会春期臨床大会. ミニシンポジウム 小児のアトピー性皮膚炎. 2010.5.8. 京都市.
 10. 加藤則人. 乾癬の治療の進歩. シンポジウム 乾癬治療の今昔物語. 第 25 回日本乾癬学会. 2010.9.4. 山口市.
 11. Katoh N. What's new in immunology of atopic dermatitis. 17th International Contact Dermatitis Symposium & 10th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium. 2009.11.6. Kyoto, Japan.
 12. 加藤則人. アトピー性皮膚炎のここが聴きたい. 第 25 回日本臨床皮膚科医会近畿支部総会・学術大会. 2009. 7. 12. 京都市.
 13. 加藤則人. アトピー性皮膚炎患者の治療意欲を高めるコミュニケーションスキル. 第 31 回西日本小児アレルギー研究会. 2009. 8. 23. 福岡市.
 14. 加藤則人. アトピー性皮膚炎: これまでとこれから. 第 413 回日本皮膚科学会京滋地方会. 2009. 12. 12. 京都市.
 15. 加藤則人. 救急医療-即時型アレルギーへの対応「治療と生活指導の実際」. 第 108 回日本皮膚科学会総会. 2009. 4. 24. 福岡市.
 16. 加藤則人. 皮膚のバリアについてもう一度考える-患者さんにも伝えたい最近の知見-. 第 108 回日本皮膚科学会総会 イブニングセミナー. 2009. 4. 24. 福岡市.
 17. 加藤則人. 乾癬治療における種々の剤形の工夫. 第 24 回日本乾癬学会 ランチョンセミナー. 2009. 9. 4. 東京都.
 18. 加藤則人. アトピー性皮膚炎に対するタクロリムス外用療法. 第 59 回日本アレルギー学会秋期学術大会. 教育セミナー. 2009. 10. 29. 秋田市.
 19. 加藤則人. 日々の診療を楽しくするコミュニケーションスキル. 第 25 回日本臨床皮膚科医会・三支部合同学術集会. 2009. 11. 29. 東京都.
 20. 加藤則人. アトピー外来から発信する免疫・アレルギーの知見. 第 39 回日本皮膚アレルギー学会・接触皮膚炎学会総会学術大会. シンポジウム「若手が語る基礎免疫・アレルギーの知識」. 2009. 11. 7. 京都市.
- [その他]
ホームページ等
<http://kpum-dermatology.jp/>
6. 研究組織
(1) 研究代表者
加藤 則人 (KATOH NORITO)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号: 30244578
- (2) 研究分担者
浅井 純 (ASAI JUN)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号: 50438222