

## 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 6 月 5 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791081

研究課題名（和文） 皮膚炎におけるケラチノサイトの機能におよぼす血小板の役割に関する研究

研究課題名（英文） Role of platelets for the function of keratinocytes in dermatitis

研究代表者

峠岡 理沙(MINEOKA RISA)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：80464585

研究成果の概要（和文）：本研究者は今までにアレルギー性皮膚炎の病態において血小板が重要な役割を果たしていることを解明した。皮膚炎では表皮を構成するケラチノサイトはさまざまな接着分子やサイトカインを発現することにより皮膚炎の病態に深く関与しているが、皮膚炎におけるケラチノサイトにおよぼす血小板の役割についてはまだ明らかにされておらず、本研究では皮膚炎におけるケラチノサイトの機能におよぼす血小板の役割に関する実験を行った。その結果、血小板はケラチノサイトの増殖能などの機能を促進する傾向がみられたが、ややデータにばらつきが多く、現在のところでは有意差のある結果が得られていない。

研究成果の概要（英文）：We have reported that platelets play important roles in pathomechanisms of allergic dermatitis. Keratinocytes in the epidermis are deeply involved in pathomechanisms of allergic dermatitis by expressing adhesion molecules and releasing cytokines. However, the role of platelets for the function of keratinocytes in dermatitis has yet to be clarified. We performed the experiments about the role of platelets on keratinocyte function. The results of our study suggest that platelets may affect the function of keratinocytes, however, we have not shown enough data to clarify the role of platelets on keratinocyte function.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：皮膚科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：血小板・ケラチノサイト・接触皮膚炎

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 血小板は多くの生理活性物質を有し、止血だけでなく炎症を含むさまざまな生体反応に深くかかわっていることが近年知られるようになった。活性化血小板は白血球と結合し、炎症巣や組織損傷部位に到達し、さまざまな生理活性物質を放出することによって、炎症反応に関与していることが報告されている。しかし、皮膚を反応の場とする免疫・炎症反応における血小板の役割に関する研究報告はこれまでにほとんどみられていない。

(2) アトピー性皮膚炎や接触皮膚炎などのアレルギー性皮膚炎の患者では搔破による出血と凝血がしばしばみられ、血小板の活性化がおこっていると考えられ、この現象は表皮レベルで生じるため、血小板とケラチノサイトとの間に相互作用がおこっている可能性が推測される。アトピー性皮膚炎や接触皮膚炎などのアレルギー性皮膚炎では表皮の主な構成成分であるケラチノサイトが重要な働きをすることやケラチノサイトの機能制御が治療の標的となりうることが知られているが、ケラチノサイトの細胞接着分子の発現、サイトカインやケモカインの産生などのケラチノサイトの機能におよぼす血小板の役割については明らかでない。

## 2. 研究の目的

(1) ケラチノサイトの機能におよぼす血小板の役割が解明されれば、皮膚炎の病態における血小板の位置付けや役割、血小板と他の免疫担当細胞との関係性についての研究を大きく進展させ、生体が有する免疫・炎症制御機構の解明に新たな展開をもたらすことが

期待できる。また、マウスに抗血小板薬を経口投与して血小板活性を制御することによるケラチノサイトの機能への影響を検討することにより、血小板の活性制御がアレルギー疾患を制御する新しい治療法の開発につながることを期待でき、また抗血小板薬の皮膚への外用によるケラチノサイトの機能への影響についても本研究にて検討することにより、皮膚以外の他臓器への副作用の少ない治療法の確立につながると考えられる。

(2) ケラチノサイトを活性化血小板およびその上清存在下で培養し、そのケラチノサイトの増殖および分化、表面マーカー、サイトカイン産生能、ケラチノサイトの活性化にかかわるシグナル伝達に関連する分子や転写因子について解析することにより、ケラチノサイトの機能におよぼす *in vitro* での血小板の役割について解明する。

(3) 急性および慢性接触皮膚炎モデルマウスを用いて、薬剤および抗血小板抗体を投与することで血中の血小板数を著しく減少させることにより、接触皮膚炎でのケラチノサイトにおよぼす *in vivo* での血小板の役割について検討する。

(4) 活性化血小板の上清を血小板由来の生理活性物質に対する中和抗体やアンタゴニストで処理したり、ケラチノサイトのプリン受容体をそのアンタゴニストで処理することにより、ケラチノサイトに影響を与える血小板由来の可溶性物質の同定を行う。

(5) 抗血小板薬をマウスに投与することで血小板活性を抑制することによるケラチノサイトの機能の変化について検討する。

### 3. 研究の方法

(1) ヒト表皮ケラチノサイト培養系である NHEK (normal human epidermal keratinocyte)、HaCaT 細胞、3 次元表皮モデルを活性化血小板およびその上清存在下で培養し、そのケラチノサイトの増殖および分化、表面マーカー、サイトカイン産生能、ケラチノサイトの活性化にかかわるシグナル伝達に関連する分子や転写因子について解析することにより、ケラチノサイトの機能におよぼす *in vitro*での血小板の役割について検討する。

(2) (1)の実験において、活性化血小板の上清をサイトカインなどの血小板由来の生理活性物質に対する中和抗体やアンタゴニストで処理したり、ケラチノサイトのプリン受容体をそのアンタゴニストで処理することにより、ケラチノサイトに影響を与える血小板由来の可溶性物質の同定を行う。

(3) ハプテン単回塗布による急性接触皮膚炎モデルマウス、ハプテン反復塗布による慢性接触皮膚炎モデルマウスを用いて、薬剤および抗血小板抗体を投与することで血中の血小板数を著しく減少させることにより、急性および慢性接触皮膚炎でのケラチノサイトの機能におよぼす *in vivo*での血小板の役割について以下のように検討する。

(4) (3)の実験において、活性化血小板の上清をサイトカインなどの血小板由来の生理活性物質に対する中和抗体やアンタゴニストで処理したり、ケラチノサイトのプリン受容体をそのアンタゴニストで処理することにより、ケラチノサイトに影響を与える血小

板由来の可溶性物質の同定を行う。

### 4. 研究成果

(1) ヒト表皮ケラチノサイト培養系である HaCaT 細胞を活性化血小板存在下で培養することによる、ケラチノサイトの機能におよぼす血小板の影響については本研究課題の第一段階であるが、データにばらつきが多く、現在のところ再現性がみられていない。血液から血小板を分離する操作の際に、軽微な機械的刺激のみで血小板は容易に活性化してしまうことが、データのばらつきが多い原因と考えている。

(2) したがって、血液から血小板を分離する操作の際の血小板活性化を防止するために、今まではプロスタグランジン添加などを行っていたが、その濃度を検討したり、他の薬剤を用いて血小板活性化を防止することを検討することにより、本研究課題が今後進行するように取り組む予定である。

### 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 4 件)

① Risa Tamagawa-Mineoka, et al.

IL-21 reduces immediate hypersensitivity reactions in mouse skin by suppressing mast cell activation or IgE production.

J Invest Dermatol 131, 1513-1520, 2011.

査読有.

② 嶋岡理沙、加藤則人.

アトピー性皮膚炎における血小板の役割.

日本血栓止血学会誌 22, 77-80, 2011. 査読有.

③ Risa Tamagawa-Mineoka, et al.  
Systemic allergic contact dermatitis due to phenylephrine in eyedrops, with a long-lasting allergic patch test reaction.  
Eur J Dermatol 20, 125-126, 2010. 査読有.

④ Risa Tamagawa-Mineoka, et al.  
Platelet activation in psoriatic patients: increased plasma levels of platelet-derived microparticles and soluble P-selectin.  
J Am Acad Dermatol 62, 621-626, 2010. 査読有.

[学会発表] (計4件)

① 嵯岡理沙、加藤則人.  
成人アトピー性皮膚炎患者における血清 IL-33 の検討. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会. 平成23年5月14日-15日. 幕張メッセ (千葉県).

② 嵯岡理沙、益田浩司、加藤則人.  
成人アトピー性皮膚炎および蕁麻疹患者における血清 IL-21 の検討. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 平成23年7月16日-17日. 甲府富士屋ホテル (山梨県).

③ 嵯岡理沙、益田浩司、加藤則人.  
成人アトピー性皮膚炎および蕁麻疹患者における血清 IL-21 の検討. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会. 平成23年11月10日-12日. グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール (東京都).

④ 嵯岡理沙、加藤則人.

Platelets play important roles in recruitment of immature dendritic cells to skin in contact hypersensitivity. The 36<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 平成23年12月9日-11日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

嵯岡 理沙 (MINEOKA RISA)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：80464585

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：