

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 1日現在

機関番号：13601
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791262
 研究課題名(和文) 環境化学物質レセプターAhRがアトピー性皮膚炎に果たす役割の解明
 研究課題名(英文) Analysis of role of aryl hydrocarbon receptor for pathophysiology of atopic dermatitis
 研究代表者
 小川 英作 (OGAWA EISAKU)
 信州大学・医学部・助教
 研究者番号：20451586

研究成果の概要（和文）：

aryl hydrocarbon receptor (AhR)を過剰発現させたマウス培養表皮細胞とトランスジェニックマウスを用いて、皮膚炎を惹起させる因子として、炎症性サイトカインが関与しているということがDNAマイクロアレイを用いて検討をつけた。さらに、AhRのアクチベーターを添加しても、炎症性サイトカインが上昇することが分かった。AhRが活性化すると炎症性サイトカインが上昇し、皮膚に炎症を惹起することが分かった。

研究成果の概要（英文）：

To elucidate the mechanism how to induce inflammation in atopic dermatitis, I focused aryl hydrocarbon receptor (AhR) signaling pathway. In the recent study, Tauchi M et al. showed that constitutive expression of aryl hydrocarbon receptor in keratinocytes causes atopic dermatitis-like skin lesions in transgenic mouse.

Their discovery is very intriguing because secretion production by keratinocyte cause skin inflammation. And their skin inflammation is like atopic dermatitis.

I seeked candidates which are induced under AhR activation by using previous transgenic mouse model and AhR-overexpressed cultured keratinocyte. So I identified increasing expression of some proinflammatory cytokines, which may be related in atopic-like dermatitis. I observed increase expression of them in culutured keratinocyte after the addition of AhR activator. These data suggest that AhR activation induced expression of some proinflammatory cytokines in keratinocyte.

In atopic dermatitis, dendritic cell has a significant role in establishment of inflammation. I speculate that AhR activation in keratinocyte induce dendritic cell activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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・皮膚科学

キーワード：Ahr、アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

(1) アトピー性皮膚炎は多くの国民が罹患している

国民の3人に1人が何らかのアレルギー性疾患に罹患していると言われている。アレルギー性疾患としては、気管支喘息、アトピ

一性皮膚炎、花粉症などがあげられる。このアレルギー疾患の中でアトピー性皮膚炎の特徴は、堪え難いそう痒が慢性に続き、多くが体質に依存して発症することである。幼児では、5から6人に1人が罹患しているとも言われ、多数の患者がいるにも関わらず、多くの治療は対症療法にとどまっている。

(2) アトピー性皮膚炎には、様々な病態が含まれる

アトピー性皮膚炎の病態は現在、サイトカイン異常を主体とする免疫学的側面、角層バリア機能異常に代表される非免疫学的側面の2つの側面から捉えられてきた。非免疫学的側面では、アトピー性皮膚炎の発症因子としてフィラグリン遺伝子変異が重要である事が明らかになっている。

免疫学的には、ヘルパーT細胞のうち、Th2細胞優位の免疫機序が現在まで趨勢を占めてきた。またIgEを介さずにTh2細胞が誘導される場合があることも分かってきた。さらにTLSPやIL-18などの新規サイトカインとアトピー性皮膚炎との関連が報告されている。このようにアトピー性皮膚炎には、様々な病態が含まれている事が明らかになってきている。

(3) アトピー性皮膚炎は、環境汚染との関連性の有無

一方、近年のアトピー性皮膚炎の増加は、環境汚染の進行と関連があるのではないかと言われてきた。しかし、どのような形で関連があるのか明らかでないのが現状である。私はAhRを表皮で特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウスに着目して、アトピー性皮膚炎と環境汚染との関連性を解明しようと考えている。

AhRを過剰発現したマウスはアトピー性皮膚炎類似の症状をとる。

AhRはダイオキシンなど芳香族炭化水素類のレセプターである。生体外の化学物質である芳香族炭化水素がAhRに作用すると活性化して核内に移行して、DNAのXREモチーフに結合して転写因子として作用する。環境からの化学物質に細胞が対応する際のレセプターの1つと働いているわけである。AhRトランスジェニックマウスは、強いそう痒のため搔爬を繰り返し、また血中Th2型サイトカインが上昇していることから、アトピー性皮膚炎のモデル動物と捉えることができよう。このモデルの新しい点は、環境化学物質に対するレセプターであるAhRを、免疫系ではなく、表皮で活性化させることでアトピー性皮膚炎が惹起された点である。

AhRが活性化した状態として、ダイオキシ

ンを多量に摂取したカネミ油症の病態が考えられる。カネミ油症認定患者を対象とした研究からは、アトピー性皮膚炎有病率が増加している可能性は示唆されている。

(4) 表皮でのAhRの活性化が、Th2サイトカインの上昇などの免疫細胞の異常にどのようにつながるのか？

この疑問を解決することは、環境汚染のアトピー性皮膚炎への影響を明らかにすることにつながるであろう。本研究はAhRの活性化により、その下流のどの因子を通して、皮膚の炎症が惹起されるかを解明する事を目的としている。このことは、アトピー性皮膚炎の病態解明、さらに効果的な治療法や予防法の確立の第一歩に発展するものと考えている。

2. 研究の目的

アトピー性皮膚炎は、多くの人が苦しむ慢性の皮膚疾患である。近年アトピー性皮膚炎が増加している原因として、従来より環境汚染が発症に関与しているのではないかと言われてきた。しかし、環境汚染がアトピー性皮膚炎の発症にどのように関与するのか、明らかでないのが現状である。本研究では、化学物質に対する細胞のレセプターであるarylhydrocarbon receptor(AhR)のシグナルに着目して、アトピー性皮膚炎の病態を解明することを目指す。AhRを表皮細胞に過剰に発現させたマウスでは、強いそう痒が生じ、アトピー性皮膚炎に類似の皮膚炎が生じる。つまり、化学物質によるシグナルが表皮細胞に強く加わることがアトピー性皮膚炎の病態の一面を形成しているものと思われた。そこで本研究では、AhRを過剰発現させたマウスの病態メカニズムを明らかにすることを通じて、アトピー性皮膚炎と環境汚染の関連を解明し、さらに新たな治療ターゲットを発見することを目的とした。

3. 研究の方法

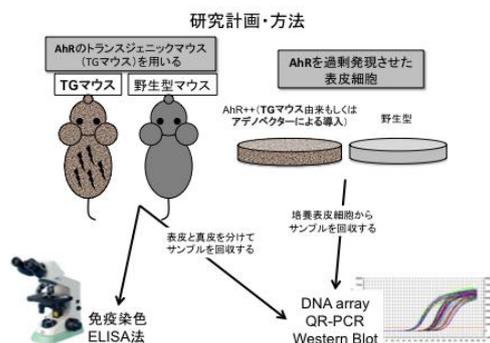
AhRを介した皮膚炎惹起のメカニズムを解析した。サイトカインやケモカインを含む様々な分子に関して、AhRの活性化による皮膚炎の惹起に関与しているのか、調べた。

まずは、AhRを過剰発現させた表皮細胞において、発現が変化している分子をDNA microarrayを用いて網羅的に調べた。そして、見当をつけたサイトカインなどについて、トランスジェニックマウスや培養表皮細胞から検体を抽出し、実際にウェスタンブロット法やリアルタイムPCR法を用いて、その発

現をタンパクレベルやRNAレベルで解析した。さらに、AhR アクチベーターがいくつか存在するので、培養表皮細胞に添加して、サイトカインなど炎症に関連する因子が増減するかどうかを解析した。

また、培養表皮細胞が AhR が過剰発現することにより、どのような炎症関連因子を発現するかを、培養上清を用いて、解析した。さらに、その培養上清が、実際に炎症を惹起するかどうかを、培養免疫細胞を用いて、解析した。

一方、in vivo では、トランスジェニックマウスを用い、実際に、組織学的に、どのような細胞が、皮膚に浸潤し、炎症を惹起しているかを、免疫染色を用いて解析した。



4. 研究成果

AhR を過剰発現させたマウスの培養表皮細胞とトランスジェニックマウスを用いて、皮膚炎を惹起させる因子の候補として、幾つかの炎症性サイトカインを見だし、それらが上昇していることを in vitro で確かめた。

また、トランスジェニックマウスの表皮を用いて、免疫染色をすすめた。HE 染色では、炎症細胞の強い浸潤を認めた。また、マスト細胞の強い浸潤も認めた。以上のことは、非常にアトピー性皮膚炎と類似しており、以前の報告と同様であった。

そこで、どのような細胞が浸潤しており、どのようなサイトカインが関連しているかを、突き止める研究を進めた。AhR のアクチベーターを添加し、マウス培養表皮細胞の変化を解析した。すると、ある種の炎症性サイトカインの発現上昇を、mRNA とタンパク質で、確かめた。以上より AhR が活性化すると炎症性サイトカインが発現上昇することが確かめられた。また、AhR の過剰発現培養表皮細胞の培養上清を、培養樹状細胞に添加したところ、活性化をフローサイトメトリーで確認した。現在、さらに確認する実験を行っている。

以上のことは、私達の考えた AhR による皮膚炎症惹起のメカニズムの根拠となると考

えられる。今後は、さらに裏付ける研究を進めてゆく必要がある。

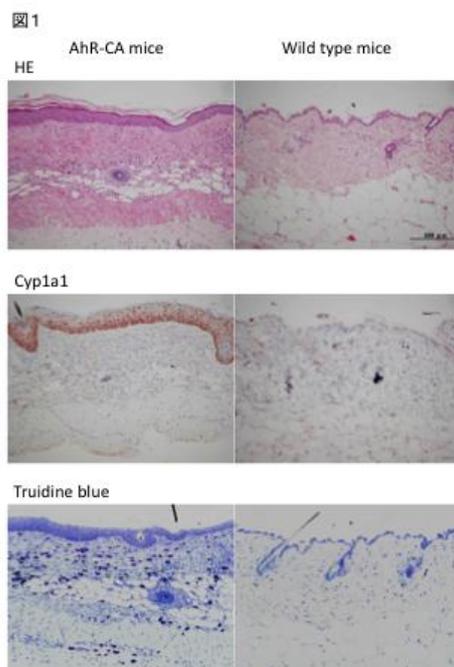


図1 : AhR トランスジェニックマウスと野生型マウスの表皮の比較

HE : 炎症細胞浸潤と表皮肥厚を認める。

Cyp1a1: AhR の下流の因子である Cyp1a1 の発現が上昇している。

Truidine blue: 浸潤している細胞はマスト細胞が多い。このことはアトピー性皮膚炎の皮膚に似ている。

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2件)

① Miyake T, Ogawa E (他7名, 2番目), Epidermal-type FABP is a predictive marker of clinical response to systemic treatment and ultraviolet therapy in psoriatic skin lesions, Journal of Dermatological Science, 68, 199-202, 2012, 査読有り. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2012.09.002

② Ashida A, Ogawa E (他9名, 8番目), Assessment of BRAF and KIT mutations in Japanese, Journal of Dermatological Science, 66, 240-2, 2012, 査読有り. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2012.03.005

〔学会発表〕（計 2 件）

①小川英作, 乾癬の治療に TNF α 阻害薬を投与中に掌蹠膿疱症様皮疹を生じた 2 例, 第 27 回日本乾癬学会, 2012. 9. 7, 新潟

②小川英作, 中枢神経浸潤した Peripheral T-cell Lymphoma, not otherwise specified の 1 例, 第 111 回日本皮膚科学会, 2012. 6. 1, 京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 英作 (OGAWA EISAKU)

信州大学・医学部・助教

研究者番号 : 20451586

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :