

ラジオNIKKEI ■放送 毎週木曜日 21:00~21:15

# マルホ皮膚科セミナー

2011年9月22日放送

第74回日本皮膚科学会東京支部学術大会⑤

教育講演3「アトピー性皮膚炎」から

## 「アトピー性皮膚炎の病態と接触アレルギーの関与」

順天堂大学 皮膚科教授  
池田 志幸

本日は、「アトピー性皮膚炎の病態と接触アレルギーの関与」という題名で、「アトピー性皮膚炎の病態におけるダニアレルゲンの接触アレルギー」という考え方についてお話ししたいと思います。

### 皮膚粘膜バリア機構の破綻

皆さん御存じの様に、小児アトピー性皮膚炎患者では口の周りの紅斑やびらんが顕著であることや、消化管が未成熟であることなどにより、皮膚あるいは消化管を通じて比較的高分子の食物タンパクが侵入し感作されることにより、食物アレルギーが誘発されると考えられています。ではダニに対するアレルギーは如何様に成立するのでしょうか。しかしまずその前提として、皮膚を通して深部にダニアレルゲンが侵入する機構を明らかにする必要があります。

1990年頃より、私の恩師である小川秀興現学校法人順天堂理事長を中心として、我々はアトピー性皮膚炎患者には「皮膚粘膜バリア機構の破綻」がある可能性を報告してきました。これは、我々が1980年代初めより行っている本症患者の外用PUVA療法への反応性、即ち如何にオクソラレンを均一に外用しても無皮疹部を含む様々な部位の皮膚への薬剤の浸透性の不均一性ならびに亢進が見られることを端緒としています。さらには本症患者あるいは正常人の角質を用いたテオフィリン浸透性試験、ならびに電子顕微鏡検査を行ったところ、アトピー性皮膚炎患者の「皮膚バリア機構の破綻」を示唆する結果が得られたことを踏まえてのものです。加えて近年では、約27から12%の邦人アトピー性皮膚炎患者において filaggrin 遺伝子異常が同定されており、アトピー性皮

膚炎における皮膚バリア機能異常の存在を強く支持する結果が得られています。

## ダニアレルゲンの性質

即ちドライスキンの状態では、皮脂膜や角層、角層間物質に不都合があるため、アレルゲンや化学物質が容易に表皮深部ないし真皮に侵入し炎症を惹起し得るうえ、経表皮水分喪失量も増加することが容易に想像されます。ではダニアレルゲンとはどのような性質を持ち、また表皮バリア機能に影響を及ぼすのでしょうか？

Slide 1 に示す様に、様々なダニ抗原が WHO によりリストされていますが、その多くはプロテアーゼであることが明らかになっています。特に主要ダニアレルゲンは cystein protease の Der p1 や Der f1 であり、cystein の存在下でプロテアーゼ活性を發揮します。

そこで我々は、ユカタンマイクロブタ剥離全層皮膚を拡散セルに固定し、その上から活性化 Der f1 を投与し、経時的にバリア障害の程度をリボフラビン法により測定しました。

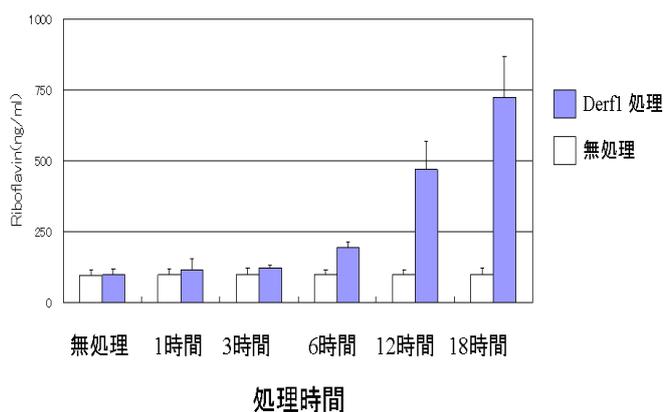
リボフラビン法につき簡単に御紹介しますと、まずリボフラビンを含む脱脂綿を角層表面に触れさせ、次に表面の余分な水溶液を除去します。その後テープで角層を剥離し 1%SDS で抽出し、蛍光強度を測定します。その結果 slide 2 に示す如く、活性化 Der f1 投与群においてリボフラビンの浸透性が経時的に亢進しました。次にヌードマウスの背部に Der f1 を 1 週間密封塗布し、皮膚バリア機能の障害につき、経表皮水分喪失量 (TEWL) ならびに前述のリボフラビン法を用いて評価しました。

Slide 1  
WHOのリストに登録されている  
ヤケヒョウヒダニ、コナヒョウヒダニ由来のアレルゲン

アレルゲン名	分子量(kDa)	本来の機能
Der p 1/Der f 1	25	システインプロテアーゼ
Der p 2/Der f 2	14	(epididymal protein)
Der p 3/Der f 3	25	トリプシン
Der p 4	60	アミラーゼ
Der p 5/Der f 5	14	不明
Der p 6/Der f 6	25	キモトリプシン
Der p 7/Der f 7	22	不明
Der p 8	26	グルタチオン-S-トランスフェラーゼ
Der p 9	24	コラゲナーゼ
Der p 10/Der f 10	36	トロポミオシン

Slide 2

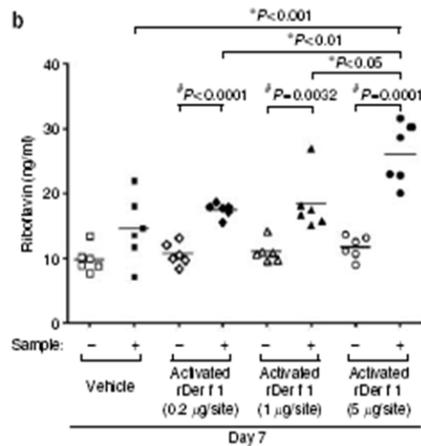
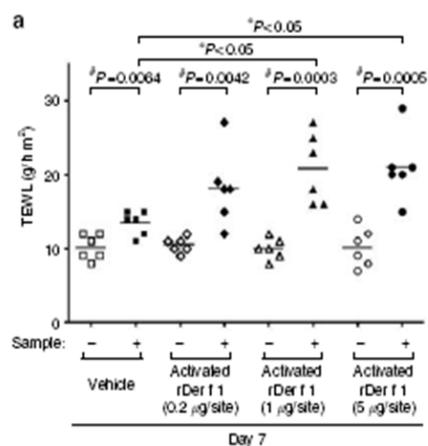
## プロテアーゼ活性をもつDerf1による In Vitroでの表皮バリア機能障害の経時的变化



ユカタンマイクロブタ皮膚 n=5

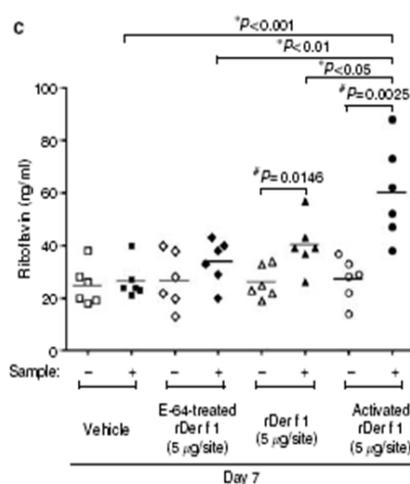
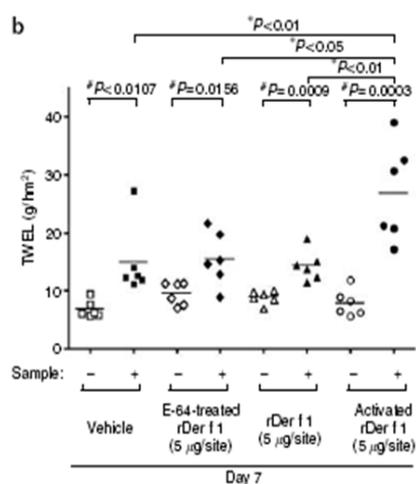
Slide 3 にその結果を示しますが、密封塗布した活性化 Der f1 の濃度依存性に、TEWL・リボフラビンとともに、上昇する所見が得られました。

Slide 3



また slide 4 に示すように、非可逆的 cystein プロテアーゼ阻害剤である E-64 を反応させた Der f1 や非活性化 Der f1 塗布群では、TEWL・リボフラビンともに、上昇は抑制されました。また走査電顕で観察したところ、E-64 添加 Der f1、非活性化 Der f1 塗布群角層ではコントロール

Slide 4



処理群角層と同様に角質は正常であり、一方活性化 Der f1 塗布群では角層の乱れが顕著に見られました。これら所見より、1) ダニアレルゲンの protease 活性自体が表皮バリア機能を障害し得ること、2) そしてアレルゲンが表皮深層に侵入し得ることが示唆されました。

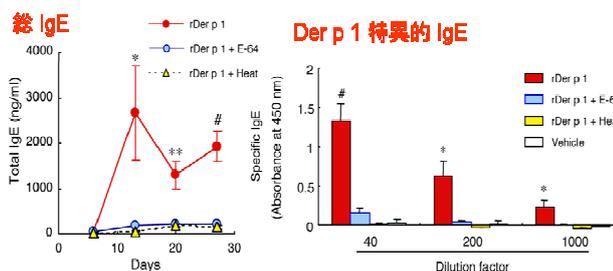
次に角層を経て表皮深部ないし真皮に達したダニアレルゲンがアレルギー応答、特に IgE クラスの応答を起こすか否か、更にもその際にダニアレルゲンのプロテアーゼ活性が

関与するか否か検討しました。即ち、アトピー性皮膚炎患者でダニアレルゲンをパッチテストすると、表皮深部ならびに真皮までアレルゲンが侵入し、OKT 6 陽性細胞表面に付着あるいは貪食されることが分かっていますので、我々は、アラムと共に Der p1、非可逆的 cystein プロテアーゼ阻害剤である E-64 で処理した Der p1、熱変性しプロテアーゼ活性を失った Der p1 をマ

ウスの腹腔に注射する方法を用いました。その結果を slide 5 に示しますが、総 IgE 量は Der p1 注射群においてのみ上昇し、E-64 処理 Der p1 や熱変性 Der p1 注射群ではほぼ産生誘導は観察されませんでした。また Der p1 特異的 IgE 産生も、Der p1 注射群においてのみ上昇し、E-64 処理 Der p1 や熱変性 Der p1 注射群ではほぼ産生誘導は惹起されませんでした。これらより、ダニアレルゲンの protease 活性が IgE の産生誘導に重要であることが示唆されました。

Slide 5

組換 Der p1 はマウスに IgE 産生を誘導し、プロテアーゼ活性の阻害により IgE 誘導能はほぼ完全に消失した



Kikuchi Y et al. J Immunol 2006

さてアトピー性皮膚炎患者皮膚にはブドウ球菌が繁殖しており、それが本症の悪化や遷延化に関与している可能性が考えられています。そこでブドウ球菌由来の V8 プロテアーゼを用いて、Der f1 の系と同様に、ヌードマウスの背部に 1 週間密封塗布し、皮膚バリア機能の障害につき、TEWL 法ならびにリボフラビン法を用いて評価しました。その結果 V8 プロテアーゼの濃度依存性に、TEWL・リボフラビンともに上昇する所見が得られました。また走査電顕で観察したところ、V8 プロテアーゼの濃度依存性に角層の乱れが顕著に見られました。これら所見より、ブドウ球菌より分泌されるプロテアーゼ活性が表皮バリア機能を障害し得ることが示唆されました。

以上の所見をまとめますと、1) アトピー性皮膚炎患者には内因性の表皮バリア機能異常があること、2) 主要ダニアレルゲンは cystein protease 活性を持つこと、3) ダニアレルゲンの protease 活性自体が表皮バリア機能を障害し得ること、そしてアレルゲンが表皮深層ならびに真皮まで侵入し得ること、4) ダニアレルゲンの protease 活性が IgE の産生誘導に重要であること、5) ブドウ球菌由来プロテアーゼ活性も表皮バリア機能を障害し得ることなど、興味深い所見が次々と得られています。これらは、アトピー性皮膚炎の病態にダニアレルゲンの慢性反復性接触アレルギーが関与する可

能性を強く示唆するものであり、遺伝要因に加え様々な環境要因も含め更なる検討が必要と考えられます。

## アトピー疾患研究センター

最後に順天堂大学大学院医学研究科、アトピー疾患研究センターについて御紹介したいと思います。slide 6 に示す様に、当センターは文部科学省学術フロンティア推進事業として発足し、設立十二年を過ぎました。初代センター長は小川秀興先生で、二代目センター長は奥村 康特任教授が務めております。私と本学小児科教授の清水俊明が

平成 20 年より副センター長を務めております。センター発足時より多数の論文が多数の雑誌に掲載されておりますが、その総 impact factor 数は、私の知る限り 1400 点を超えており、現在も益々研究が加速しております。主な研究グループは 4 つあり、まず西山グループはアレルギー疾患の遺伝要因、特に疾患感受性遺伝子同定やそのプロモーター解析を行っております。牛尾グループは肥満細胞や表皮細胞における Toll like receptor などの自然免疫や IgE とその receptor などの獲得免疫を研究しています。高井グループはダニ・細菌・花粉などのプロテアーゼ抗原の同定と表皮・上皮細胞の関係を研究しています。最後にフランソワグループですが、肥満細胞・表皮細胞・顆粒球における抗菌ペプチドの役割について研究しています。それぞれのグループが三次元的に連携し、様々な内容の研究を完成させています。

さらに本センターで特筆すべきことは、多くの外国人留学生が研究論文を発表し、学位を取得、帰国後は母国の皮膚科をリードしていることです。今後も本センターの活動がさらに高まることが期待されます。

Slide 6 順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター

