

アトピー性皮膚炎や魚鱗癬における皮膚バリア機能の異常に関わる デルモカインの役割と分子標的治療への応用に関する研究

研究代表者：長谷川 稔（医学系部門・教授）

共同研究者：宇都宮 慧（同医員）、知野剛直（同助教）、尾山徳孝（同准教授）

概 要
表皮上層に発現する dermokine (DMKN) - β/γ は、炎症の際に発現が亢進する分泌蛋白で炎症を抑制する働きが示唆されている。また、その特徴的な発現部位から皮膚のバリア機能にも関わっている可能性があり、バリア機能異常と局所免疫反応を結びつける鍵となる分子ではないかと考えた。今回、DMKN の生体内での役割を解明するため独自に DMKN- β/γ 欠損マウスを作成し、皮膚バリア機能と局所免疫への関わりを検討した。欠損マウスは生後早期に一過性の角化異常と皮膚バリア機能障害が見られ、表皮内の $\gamma \delta$ T 細胞や Langerhans 細胞の数が減少していた。これらの変化はアトピー性皮膚炎皮膚炎などの炎症性皮膚疾患や魚鱗癬など角化異常症で見られる変化と類似している。さらに検討を進めることでバリア機能異常と局所免疫反応とのクロストークの解明、病態解明や治療開発につながりうると考えられる。
関連キーワード
Dermokine, 皮膚バリア機能, アトピー性皮膚炎, 魚鱗癬

研究の背景および目的

Dermokine (DMKN) は、表皮、特に顆粒層に恒常的に発現する分泌蛋白であり、スプライシングバリエーションとしてヒトでは α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ の 5 つのアイソタイプが存在し、 α 、 β 、 γ は、マウスでも保存されている。中でも、 β と γ は表皮顆粒層に特異的に発現しており、C 末端にある Glo2 ドメインは *pI* 値が高く、サイトカイン様の作用があることが予測されている。これまでに *in vitro* の検討で DMKN が ERK のリン酸化を阻害することや Caspase の発現を亢進させることでケラチノサイトを終末角化に誘導することを示してきた。(Higashi K, et al. FEBS. 2012) さらに、DMKN- β/γ をマウスの皮膚の潰瘍に塗布すると好中球とマクロファージの創部への遊走が有意に抑

制され、創傷治癒が遅延した。(Hasegawa M, et al. J Dermatol Sci. 2013) また、独自に作成した抗 DMKN- β/γ モノクローナル抗体を用いてアトピー性皮膚炎、尋常性乾癬、接触皮膚炎などの炎症性皮膚疾患の組織を免疫組織化学染色したところ、炎症性皮膚疾患で発現の亢進がみられた。(Hasegawa M, et al. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013) これらの結果から DMKN β/γ は炎症時に発現が亢進し、過剰な炎症を抑制して皮膚の恒常性を維持する機能を有していると推測された。そこで DMKN の生体内での詳細な役割を検討するため DMKN β/γ 欠損マウスを作成し、表現型と TEWL や分子量ごとの物質の表皮透過性で評価される皮膚バリア機能の解析を行った。

研究の内容および成果

DMKN- β/γ 欠損マウスは β と γ に共通する exon1 を Cre-loxP システムを用いて欠失させ得ることにより作成した。皮膚表現型の解析の結果、欠損マウスは生後 5 日目から全身の皮膚に著明な鱗屑が見られた (図 1)。しかし、その表現型は成長とともに消失した。HE 染色や透過電顕による観察では欠損マウスの皮膚は表皮顆粒層の肥厚、ケラトヒア

リン顆粒の増加、大小不同となる構造異型が見られた (図 2)。これはケラトヒアリン顆粒の成熟障害のため、顆粒が小型化、多層化したものと考えられた。Inside-out の皮膚バリア機能の指標となる経表皮水分蒸散量 (TEWL) を測定すると、新生仔期のみ TEWL が上昇し、バリア機能障害が見られた。しかし、色素浸透試験による outside-in の皮膚バ

リア機能評価では胎生期 (E18.5) の皮膚バリア形成や生後早期 (P2) に異常は見られなかった (図 3)。また、皮膚のフローサイトメトリーを用いた検討では新生児期早期における表皮内の $\gamma\delta$ T 細胞や Langerhans 細胞が有意に減少していた (図 4)。これらの所見は、アトピー性皮膚炎や魚鱗癬にみられる変化であることから、DMKN β/γ がバリア機能異常やそれに伴う皮膚の炎症による可能性が示唆された。この結果から、DMKN β/γ の欠損がバリア機能のみならず、表皮や真皮の免疫担当細胞にも影響を与えることを示された。

DMKN はバリア機能と抗炎症作用を併せ持つと思われるユニークな分子であり、この役割をさらに詳細に解明することは、アトピー性皮膚炎や魚鱗癬

の病態解明につながると思われる。今後は DMKN β/γ 欠損マウスと他の角化関連分子の欠損マウスとの掛け合わせも行い、各角化関連分子間のクロストークについても明らかにしていきたい



図 1. 新生仔欠損マウスでは鱗屑が目立つ (生後 7 日目)

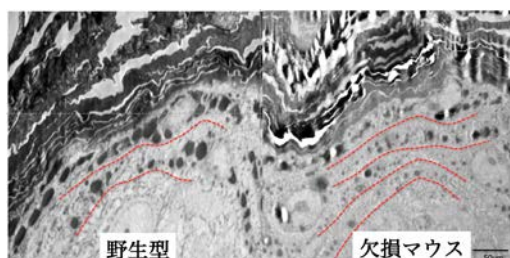
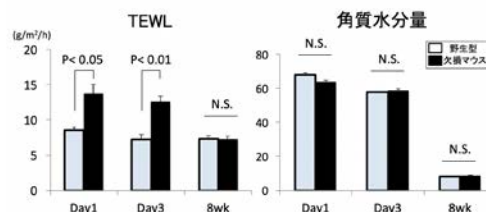


図 2. 欠損マウスでケラトヒアリン顆粒が小型化・多層化していた (生後 7 日目背部皮膚)



トルイジンブルー色素浸透試験

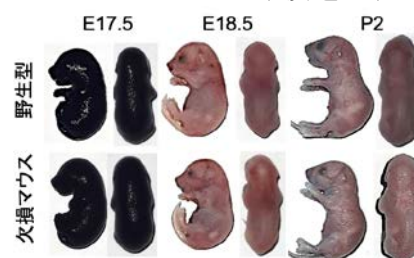


図 3. 欠損マウスでは新生仔早期に inside-out の皮膚バリア機能が障害されていた。

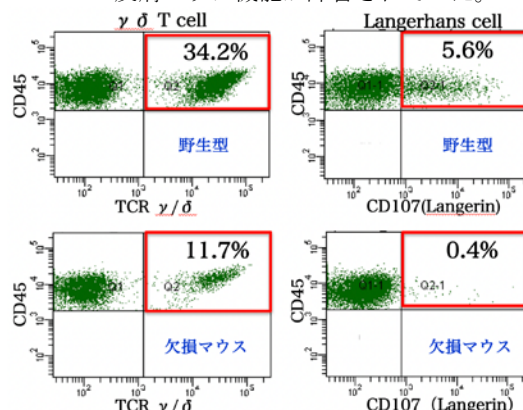


図 4. 欠損マウスでは表皮内の $\gamma\delta$ T 細胞や Langerhans 細胞が減少していた (生後 3 日目背部皮膚)

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「発表論文」

Homeostatic Function of Dermokine in the Skin Barrier and Inflammation. Utsunomiya A, Chino T, Utsunomiya N, VH Luong, Tokuriki A, Higashi K, Saito K, Suzuki N, Ohara A, Sugai M, Sugawara K, Tsuruta D, Oyama N, and Hasegawa M. 投稿中

「発表」

1. International Investigative Dermatology (2018, Orland)

2. The 47th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (2018, Fukuoka)

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

文部科学省科学研究費・若手研究・2017-2019

「炎症性皮膚疾患のバリア機能異常を反映する新規バイオマーカーの探求と臨床応用の検討」