

Title	ランゲルハンス細胞と表皮タイトジャンクションによる動的表皮免疫バリア機構の解析
Sub Title	Analysis of the dynamic skin immune and physical barrier system by tight junctions and Langerhans cells
Author	久保, 亮治(Kubo, Akiharu) 天谷, 雅行(Amagai, Masayuki) 永尾, 圭介(Nagao, Keisuke) 大山, 学(Oyama, Manabu)
Publisher	
Publication year	2014
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2013.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>皮膚は我々の身体の外表を覆い、アレルゲンや病原体が身体の中に侵入するのを防いでいる。哺乳類皮膚表皮のバリアは、角質バリアとタイトジャンクションバリアの2つの要素から構成される。皮膚の最表層を覆う角質層のバリア機能不全が、慢性的な外来抗原の経皮的侵入の増加を招き、経皮感作が成立しやすくなることで、様々なアトピー疾患の発症要因となると考えられている。角質の内側では、タイトジャンクションのバリアによってアレルゲンや病原体の侵入を防ぎつつ、ランゲルハンス細胞がタイトジャンクションの外側から抗原を取得することで免疫をつけるというシステムが働いている。これらの精緻な仕組みの解明を行った。</p> <p>Skin barrier is constituted by the stratum corneum barrier and tight junction barrier. Insufficiency of the stratum corneum barrier predispose patients to atopic dermatitis via enhanced percutaneous allergen penetration and subsequent allergic sensitization. We discovered that epidermal Langerhans cells penetrate through the tight junction barrier from inside to outside and take up antigens that penetrate through the stratum corneum but are limited to penetrate into the body by the tight junction barrier. In the atopic dermatitis patients, the tight junction penetration of Langerhans cells are increased in number, suggesting enhanced percutaneous sensitization against external allergens.</p>
Notes	研究種目：基盤研究(A) 研究期間：2010～2013 課題番号：22249044 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
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22249044seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22249044

研究課題名(和文)ランゲルハンス細胞と表皮タイトジャンクションによる動的表皮免疫バリア機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of the dynamic skin immune and physical barrier system by tight junctions and Langerhans cells

研究代表者

久保 亮治 (Kubo, Akiharu)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：70335256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,700,000円、(間接経費) 11,010,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚は我々の身体の外表を覆い、アレルゲンや病原体が身体の中に侵入するのを防いでいる。哺乳類皮膚表皮のバリアは、角質バリアとタイトジャンクションバリアの2つの要素から構成される。皮膚の最表層を覆う角質層のバリア機能不全が、慢性的な外来抗原の経皮的侵入の増加を招き、経皮感作が成立しやすくなることで、様々なアトピー疾患の発症要因となると考えられている。角質の内側では、タイトジャンクションのバリアによってアレルゲンや病原体の侵入を防ぎつつ、ランゲルハンス細胞がタイトジャンクションの外側から抗原を取得することで免疫をつけるというシステムが働いている。これらの精緻な仕組みの解明を行った。

研究成果の概要(英文)：Skin barrier is constituted by the stratum corneum barrier and tight junction barrier. Insufficiency of the stratum corneum barrier predispose patients to atopic dermatitis via enhanced percutaneous allergen penetration and subsequent allergic sensitization. We discovered that epidermal Langerhans cells penetrate through the tight junction barrier from inside to outside and take up antigens that penetrate through the stratum corneum but are limited to penetrate into the body by the tight junction barrier. In the atopic dermatitis patients, the tight junction penetration of Langerhans cells are increased in number, suggesting enhanced percutaneous sensitization against external allergens.

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：皮膚バリア タイトジャンクションバリア 角質バリア ランゲルハンス細胞

1. 研究開始当初の背景

表皮は脊椎動物の体表において自己と外界を区切る構造である。これまでは角層が表皮唯一のバリアとされてきた。古瀬・申請者・月田らによるタイトジャンクション(TJ)構成蛋白 Claudin-1 KO マウスの解析(Furuse et al. *J Cell Biol*, 2002)により、初めて哺乳類皮膚に機能的な TJ バリアが存在することが明らかとなった。しかし、この発見以降も表皮 TJ バリアの研究、特に外から内への病原体・アレルゲンの侵入に対するバリア機能の研究は全くなされていなかった。これは皮膚・免疫研究者の TJ バリアに対する認識不足が主な原因であるが、表皮 TJ バリアを可視化する技術の不在・哺乳類成体(特にヒト成体)における表皮 TJ バリア機能評価方法の不在といった技術的制約も、表皮 TJ バリア研究の大きな障害となっていた。我々は、角層バリアの下に TJ による外来物質の侵入を防ぐバリア機構が存在し、角層バリアを突破した抗原は TJ バリアにより侵入阻止される一方、ランゲルハンス細胞が樹状突起を TJ バリア外に送り出し、TJ バリアを保ったまま外来抗原をサンプリングするという、皮膚の物理的・免疫的バリアシステムに新しい概念を提示していた(Kubo et al. *J Exp Med*, 2009)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、皮膚のバリアシステムを、角層バリアと TJ バリアの二重の物理的バリアシステムと、その内側に存在する免疫によるバリアシステムからなる複合システムとして捉えなおすことである。

(1) 活性化したランゲルハンス細胞の樹状突起伸長メカニズムと、ケラチノサイトとの間の異種細胞間 TJ 形成メカニズムの解析：休止期のランゲルハンス細胞の樹状突起が、表皮 TJ よりも1層下の細胞層にて停止しているのに対し、活性化した LC は、樹状突起を伸ばしてケラチノサイトとの間に新たな TJ を形成し、TJ バリアの外側の環境を探索する。この分子メカニズムを解析する。

(2) 休止期と活性化後のランゲルハンス細胞の機能変化の解析：ランゲルハンス細胞は活性化して TJ 外より外来抗原を取得した場合、その抗原に対する免疫を成立させることが予想される。そのメカニズムを解析する。

(3) 正常および疾患ヒト皮膚における TJ とランゲルハンス細胞の動態変化の解析：ヒト皮膚における TJ バリアとランゲルハンス細胞の相互作用は未解明であり、正常状態と炎症性皮膚疾患における相互作用について解析する。

(4) 表皮 TJ バリア・角質バリア恒常性維持機構の解析：表皮は常にターンオーバーする組織であり、表皮細胞は基底層でのみ分裂増殖し、分化した後、ただ一度だけ TJ を形成、その後 TJ を失い角質となる。角質は一定の分厚さを維持して、表面から順に鱗屑となっ

て剥がれ落ちる。この表皮組織の恒常性を維持する分子機構を解析する。

3. 研究の方法

(1) ランゲルハンス細胞、表皮細胞それぞれにおいて claudin-1 を細胞特異的に欠損させた時のフェノタイプ解析を行い、活性化したランゲルハンス細胞の樹状突起とケラチノサイトとの間の異種細胞間 TJ 形成メカニズムを解析する。

(2) ランゲルハンス細胞を消失させたモデルマウスを用いて、外来性のブドウ球菌毒素に対する免疫成立機構におけるランゲルハンス細胞の役割を解析する。

(3) 表皮シートの3次元可視化手法を用いて、ヒト皮膚の TJ バリア構造を詳細に解析するとともに、正常・アトピー性皮膚炎・乾癬表皮における TJ バリアとランゲルハンス細胞の動態変化を解析する。

(4) TJ バリアの恒常性維持機構を解明するために、TJ バリアを構成する表皮 SG2 細胞と TJ バリアを失う表皮 SG1 細胞を単離し、遺伝子発現変化を解析する。また、角質バリアの恒常性が崩れて過角化を引き起こす疾患の病態メカニズムを解析することにより、角質バリアの恒常性維持機構について解析する。

4. 研究成果

(1) 活性化したランゲルハンス細胞の樹状突起伸長メカニズムと、ケラチノサイトとの間の異種細胞間 TJ 形成メカニズムの解析

ランゲルハンス細胞の樹状突起と表皮ケラチノサイトとの TJ 形成機構の解析のために、claudin-1 conditional KO マウスを作成した。本マウスと CD11c-cre マウスを掛け合わせ、ランゲルハンス細胞の claudin-1 分子を KO した。claudin-1 を失っても、ランゲルハンス細胞の表皮内の位置、樹状突起の伸長と表皮 TJ とのドッキング、活性化後の表皮から真皮への遊走、に変化は見られなかった(未発表)。表皮 TJ とのドッキング部位には claudin-9 が集積して TJ が形成されており、claudin-1 の欠損が claudin-9 によって補われたために表皮細胞との TJ 形成について表現型が現れなかったと考えられた。

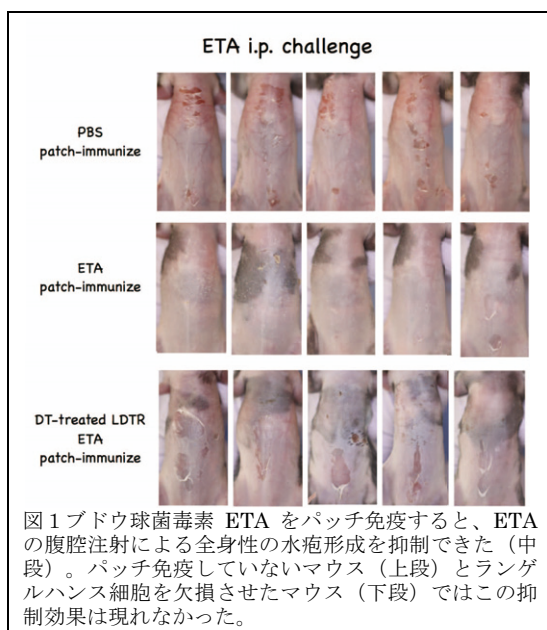
(2) 休止期と活性化後のランゲルハンス細胞の機能変化の解析

ランゲルハンス細胞による TJ 外からの抗原取得が生体内でどのような意義を持つかについて解析した。水溶性蛋白抗原を皮膚にパッチすると、抗原は角質に浸透するものの表皮 TJ により体内への侵入は防がれると考えられる。この時、ランゲルハンス細胞のみは、表皮 TJ 外へと樹状突起を延ばすことが可能であるため、TJ 外で留められている抗原を取得して、免疫系に提示することができると予想された。

まず、ovalbumin (OVA)水溶液をマウス皮

膚にパッチしたところ、IgG1 応答が生じた。この応答がランゲルハンス細胞依存性かどうかを調べる為以下の実験を行った。まず、**langerin-DTR** マウスをジフテリアトキシン処理して、ランゲルハンス細胞と **langerin** 陽性真皮樹状細胞を欠失させたところ、**OVA** に対する IgG1 応答が欠失した。一方、放射線照射により真皮樹状細胞を欠失させた野生型マウスに **langerin-DTR** マウス骨髄を移植すると、ランゲルハンス細胞は **DTR** を発現していないが、**langerin** 陽性真皮樹状細胞は **DTR** を発現しているマウスを得ることができる。このマウスにジフテリアトキシン処理をおこない、**langerin** 陽性真皮樹状細胞のみを欠失させたマウスを作成して、**OVA** パッチを行ったところ、**OVA** に対する IgG1 応答は正常であった。すなわち、**langerin** 陽性真皮樹状細胞ではなく、ランゲルハンス細胞により、**OVA** パッチ時の IgG1 応答は生じていることが明らかとなった。

次に、この免疫応答が実際に生体防御に働いていることを明らかにするために、ブドウ球菌の表皮剥脱毒素 **ETA** を皮膚にパッチして免疫することにより、**ETA** の全身投与による表皮剥脱（ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群のマウスモデル）を予防できるかについて、マウスを用いて検討した。**ETA** を皮下に注入すると、**ETA** は **TJ** の内側でのみ **Desmosome** 構成蛋白 **Dsg1** を分解し、表皮 **TJ** の内側で水疱を形成した。一方、**ETA** をパッチしても水疱は生じなかった。すなわち、**ETA** は表皮 **TJ** を超えることができないと考えられた。**ETA** のパッチにより IgG1 応答が起こったが、この応答はジフテリアトキシンを投与した **langerin-DTR** マウスでは起こらなかった。PBS をパッチ免疫した野生型マウス、**ETA**

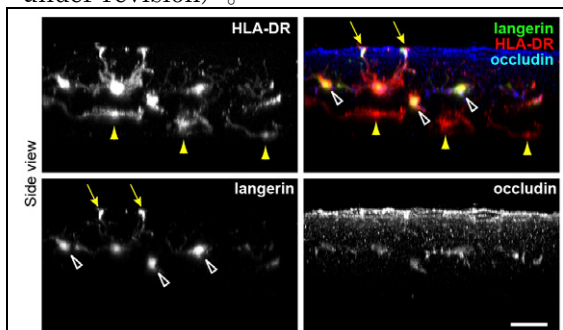


をパッチ免疫した野生型マウス、**ETA** をパッチ免疫したジフテリアトキシン処理 **langerin-DTR** マウス、のそれぞれについて **ETA** の腹腔注射によるチャレンジを行った

ところ、**ETA** をパッチ免疫した野生型マウスにおいてのみ、表皮剥脱が有意に抑制された（図1）。以上より、ランゲルハンス細胞による **TJ** 外からの抗原取得を介した免疫応答が、病原性蛋白抗原に対する予防免疫として働くことが初めて実証された (**Ouchi et al, JEM 2011**)。

(3) 正常および疾患ヒト皮膚における **TJ** とランゲルハンス細胞の動態変化の解析

正常人、アトピー性皮膚炎患者、尋常性魚鱗癬患者より皮膚を採取して表皮シート染色を行い、**TJ** とランゲルハンス細胞、表皮内樹状細胞について解析した。アトピー性皮膚炎の病変のうち、紅斑のみが見られ、びらんや鱗屑を伴わないところを生検し、表皮シートを作成した。アトピー性皮膚炎表皮では、ランゲルハンス細胞に加えて **langerin** 陰性の表皮内樹状細胞 (**IDEC**) の出現が見られた。紅斑のみの表皮では、分子量 **556Da** の **sulfo-NHS-LC-biotin** に対する表皮 **TJ** のバリア機能は保たれていた。一方、活性化して表皮 **TJ** 外に樹状突起を伸ばしたランゲルハンス細胞の数は有意に増加していた。興味深いことに、**IDEC** はランゲルハンス細胞に比べて表皮の深いところに位置し、樹状突起を水平方向に伸ばしており、表皮 **TJ** とのドッキングは見られなかった（図2）。以上より、ランゲルハンス細胞と **IDEC** の動態は異なることが示された (**Yoshida et al, manuscript under revision**)。

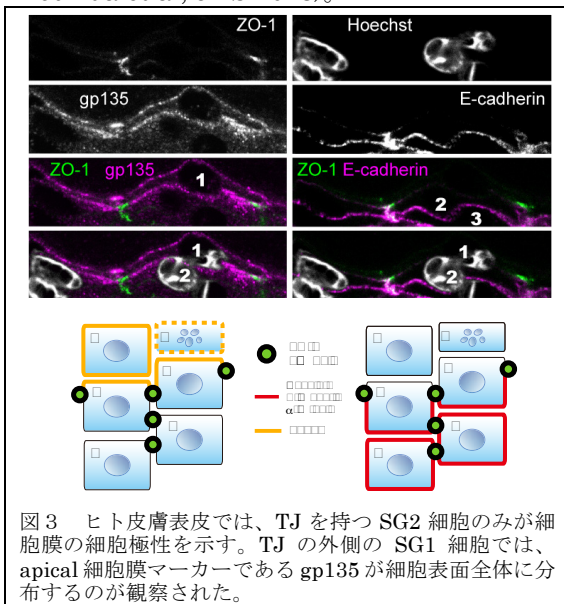


(4) 表皮 **TJ** バリア・角質バリア恒常性維持機構の解析

表皮 **TJ** バリア恒常性維持機構の解析：

マウスの耳の表皮では、顆粒層をなす扁平な細胞は縦方向に規則正しく並んでおり、ほとんどの場合、3層からなる。3層の細胞を外側から順に **SG1**、**SG2**、**SG3** 細胞と名付けると、**TJ** は **SG2** 細胞同士が接着する接着面の最もアピカル側に存在し、表皮を **TJ** バリアの外側と内側に区切っている。言い換えると、**TJ** バリアと角質層の間には、1層の生きた細胞 (**SG1** 細胞) からなる層が存在している。一方、ヒトの表皮では、あまりこのような縦方向に規則正しく並んだ配置は観察

されない。そのため、顆粒層の一番外側の SG1 細胞がしばしば見過ごされてしまい、角質の直下の細胞が TJ を持つとこれまで記載されてきた。しかし、表皮細胞の詳細な三次元観察、および apical 細胞膜と basolateral 細胞膜の詳細な観察により、ヒトにおいても TJ バリアと角質層の間に、1 層の生きた (核を保持している) 細胞からなる層が存在することを明らかにした。単層上皮で TJ の外側のアピカル細胞膜に局在する gp135 蛋白と、TJ の内側の細胞膜に存在する cadherin 蛋白をそれぞれ、ヒト表皮で染色したところ、SG1 細胞では細胞全周に gp135 が分布するのに対し、SG2 細胞では ZO-1 の染色により示される TJ を境として、apical 細胞膜に gp135 が、basolateral 細胞膜に cadherin が極性を持って分布する。一方、SG3 細胞では、細胞膜全周に cadherin が分布する。そして常に、apical 細胞膜と basolateral 細胞膜という細胞膜極性を示すただ 1 層の細胞 (すなわち SG2 細胞) だけが、細胞間の物質移動に対するバリア機能を示す (すなわち TJ 機能を有する) ことが明らかとなった (図 3 : Yoshida et al, JDS 2013)。



マウス表皮、ヒト表皮において、表皮シート、ETA 処理による SG1-SG2 シートの単離手法とそれぞれからの mRNA 抽出手法を確立し、マイクロアレイ解析を行うことにより、顆粒層上層で特異的に発現上昇する遺伝子のプロファイリングを行った (未発表)。本研究成果は、今後我々が計画している、疾患遺伝子検索による新規の表皮恒常性維持に関する分子の探索において、重要な基礎データとなることが期待できる。

表皮角質バリア恒常性維持機構の解析：

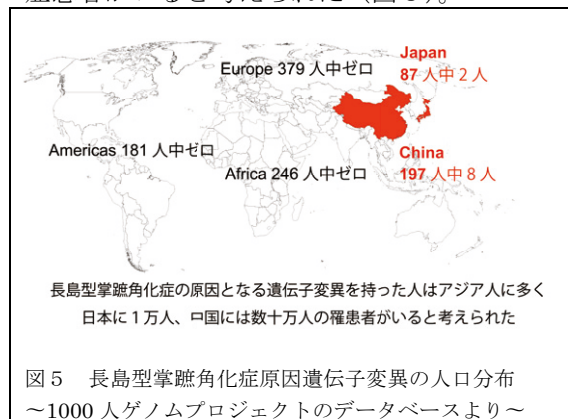
表皮角質バリア破綻疾患の原因探索による、角質バリア恒常性維持に関わる新規因子の探索を行った。角質の恒常性が失われる疾患として、過角化および水浸時の角質白色変

化を来す長島型掌蹠角化症を対象として、原因遺伝子の探索を行った。

患者 3 名より得た血液よりゲノム DNA を抽出しエクソーム解析を行った。劣性遺伝疾患モデルに従って解析した結果、患者 3 名が共通してホモ変異またはコンパウンドヘテロ変異を持つ遺伝子はセリンプロテアーゼインヒビターをコードする *SERPINB7* のみであった。さらに 10 名の患者について解析したところ、全員が *SERPINB7* にホモ変異またはコンパウンドヘテロ変異を持っていた。また、いずれの変異も、プロテアーゼインヒビター活性に必要なドメインを欠失する変異であり、機能喪失型変異と考えられた。以上より、長島型掌蹠角化症が、プロテアーゼインヒビター *SERPINB7* の欠損症であることが明らかとなった (図 4 : Kubo et al, Am J Hum Genet 2013)。



また、見つかった変異は創始者効果によりアジア人に広く分布しており、日本人に 1 万人以上、中国人では数十万人の長島型掌蹠角化症患者がいると考えられた (図 5)。



表皮には様々なプロテアーゼおよびプロテアーゼインヒビターが発現しており、その

バランスによって角質の恒常性が保たれていると考えられる。本発見は、表皮角質の恒常性維持機構の解析に新たなツールを提供するものである。また、長島型掌蹠角化症の原因が明らかとなったことで、今後プロテアーゼインヒビター補充療法などの新しい治療方法の開発にもつながる成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計13件) 全て査読あり

1. Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M. Mutations in *SERPINB7*, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis. *Am J Hum Genet.* 93:945-956, 2013. (doi: 10.1016/j.ajhg.2013.09.015)
2. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M. A homozygous nonsense mutation in the gene for Tmem79, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 132:1111-1120.e1114, 2013. (doi: 10.1016/j.jaci.2013.08.027)
3. Yoshida K, Yokouchi M, Nagao K, Ishii K, Amagai M, Kubo A. Functional tight junction barrier localizes in the second layer of the stratum granulosum of human epidermis. *J Dermatol Sci.* 71:89-99, 2013. (doi: 10.1016/j.jdermsci.2013.04.021)
4. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M. The stratum corneum comprises three layers with distinct metal-ion barrier properties. *Sci. Rep.* 3:1731, 2013. (doi: 10.1038/srep01731)
5. Sandilands A, Brown SJ, Goh CS, Pohler E, Wilson NJ, Campbell LE, Miyamoto K, Kubo A, Irvine AD, Thawer-Esmail F, Munro CS, McLean WHI, Kudoh J, Amagai M, Matsui T. Mutations in the *SASPase* Gene (*ASPRV1*) Are Not Associated with Atopic Eczema or Clinically Dry Skin. *J Invest Dermatol.* 132:1507-1510, 2012. (doi: 10.1038/jid.2011.479)
6. Nagao K, Kobayashi T, Moro K, Ohyama M, Adachi T, Kitashima DY, Ueha S, Horiuchi K, Tanizaki H, Kabashima K, Kubo A, Cho Y-H, Clausen BE, Matsushima K, Suematsu M, Furtado GC, Lira SA, Farber JM, Udey MC, Amagai M. Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin. *Nat Immunol.* 13:744-752, 2012. (doi: 10.1038/ni.2353)
7. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Shimizu A, Mizuno H, Yamada T, Amagai M. Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *J Allergy Clin Immunol.* 129:1538-1546.e1536, 2012. (doi: 10.1016/j.jaci.2012.01.068)
8. De Benedetto A, Kubo A, Beck LA. Skin barrier disruption: a requirement for allergen sensitization? *J Invest Dermatol.* 132:949-963, 2012. (doi: 10.1038/jid.2011.435)
9. Kubo A, Nagao K, Amagai M. Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *J Clin Invest.* 122:440-447, 2012. (doi: 10.1172/JCI57416)
10. Matsui T, Miyamoto K, Kubo A, Kawasaki H, Ebihara T, Hata K, Tanahashi S, Ichinose S, Imoto I, Inazawa J, Kudoh J, Amagai M. *SASPase* regulates stratum corneum hydration through profilaggrin-to-filaggrin processing. *EMBO Mol Med.* 3:320-333, 2011. (doi: 10.1002/emmm.201100140)
11. Ouchi T, Kubo A, Yokouchi M, Adachi T, Kobayashi T, Kitashima D, Fujii H, Clausen B, Koyasu S, Amagai M, Nagao K. Langerhans cell antigen capture through tight junctions confers preemptive immunity in experimental staphylococcal scalded skin syndrome. *J Exp Med.* 208:2607-2613, 2011. (doi: 10.1084/jem.20111718)

〔学会発表〕(計41件)

1. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Ohashi Y, Amagai M. The stratum corneum comprises three layers with distinct barrier properties to metal ions. *International Investigative Dermatology 2013*, Edinburgh, 2013.5.8-11
2. Kubo A, Yoshida K, Yokouchi M, Ishii K, Kawasaki H, Ebihara T, Nagao K, Amagai M. Dendritic cells penetrate epidermal tight junction barriers to uptake external antigens: a possible involvement in atopic dermatitis. *Molecular Structure and Function of the Apical Junctional Complex in Epithelia and Endothelia 2012*, Melida, Mexico, 2012.10.30-11.7
3. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Ohashi Y, Amagai M. The stratum corneum comprises three layers with distinct barrier properties, as revealed by TOF-SIMS imaging. *62nd Montagna Symposium on the Biology of Skin 2012*, Portland, Oregon, 2012.10.11-13
4. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Ohashi Y, Amagai M. High-resolution

- TOF-SIMS Imaging reveals Multi-layered Barrier Structure of the Stratum Corneum of Skin. *19th International Mass Spectrometry Conference*, Kyoto, Japan, 2012.9.16-17
5. Kubo A, Yokouchi M, Atsugi T, Ohyama M, Amagai M. Investigation of the tight junction barrier in hair follicles and sebaceous glands. *The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology*, Kyoto, 2011.12.9-10
 6. Yoshida K, Kubo A, Kawasaki H, Nagao K, Amagai M. Langerhans cells but not Langerin-negative inflammatory dendritic epidermal cells gain access to the environment outside the tight junction barrier in atopic dermatitis skin. *2011 The annual Meeting of the Japanese Society for Immunology*, Chiba, Japan, 2011.11.27-29
 7. Kubo A, Yoshida K, Yokouchi M, Ishii K, Kawasaki H, Ebihara T, Nagao K, Amagai M. Langerin-positive Langerhans cells but not Langerin-negative inflammatory dendritic epidermal cells penetrate epidermal tight junction barriers in atopic dermatitis. *12th International Workshop on Langerhans Cells*, Innsbruck, Austria, 2011.10.4-6
 8. Yoshida K, Kubo A, Yokouchi M, Ishii K, Kawasaki H, Ebihara T, Nagao K, Amagai M. Langerin-positive Langerhans cells but not Langerin-negative inflammatory dendritic epidermal cells penetrate epidermal tight junction barriers in atopic dermatitis. *41st Annual Meeting of European Society for Dermatological Research*, Barcelona, Spain, 2011.9.8-10
 9. Ouchi T, Kubo A, Adachi T, Kobayashi T, Kitashima D, Fujii H, Clausen B, Koyasu S, Amagai M, Nagao K. Langerhans cell play an essential role in inducing protective humoral immune response subsequent to antigen uptake through tight junctions. *41st Annual Meeting of European Society for Dermatological Research*, Barcelona, Spain, 2011.9.7-10
 10. Kubo A, Ishizaki I, Kubo A, Kawasaki H, Ohashi Y, Amagai M. High-resolution TOF-SIMS imaging and sequential immunofluorescent analysis of multi-layered barrier structure of the mouse skin stratum corneum. *59th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Denver, Colorado, 2011.6.9
 11. Yoshida K, Kubo A, Yokouchi M, Ishii K, Kawasaki H, Ebihara T, Ohyama M, Nagao K, Amagai M. Human epidermal tight junctions are functional and allow penetration of activated Langerhans cell dendrites. *71th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology*, Phoenix, Arizona, 2011.5.5
 12. Kawasaki H, Nagao K, Kubo A, Hata T, Mizuno H, Yamada T, Amagai M. Impaired stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin knockout mice. *71th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology*, Phoenix, Arizona, 2011.5.5
 13. Yokouchi M, Kubo A, Kawasaki H, Amagai M. Maintenance of intact epidermal tight junction barriers in filaggrin-deficient mouse models. *The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology*, Wakayama, Japan, 2010.12.3
 14. Kubo A, Nagao K, Yokouchi M, Yoshida K, Sasaki H, Amagai M. Langerhans cell dendrites penetrate through epidermal tight junction barrier during foreign antigen uptake. *70th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology*, Atlanta, Georgia, USA, 2010.5.6
- 〔図書〕（計 1 件）
1. Kubo A, Nagao K, Amagai M., Springer, “Molecular Dermatology: Methods and Protocols”, 3D visualization of epidermal Langerhans cells. *Methods Mol Biol.* 961:119-127, 2013 (doi: 10.1007/978-1-62703-227-8_5)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
久保 亮治 (KUBO, Akiharu)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：70335256
 - (2) 研究分担者
天谷 雅行 (AMAGAI, Masayuki)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：90212563
(平成 24 年度まで)
- 永尾 圭介 (NAGAO, Keisuke)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：40286521
- 大山 学 (OOYAMA, Manabu)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：10255424