

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年9月4日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16362

研究課題名（和文）発汗異常症に続発する皮膚アレルギー疾患のメカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanism of skin allergy related to sweating disorders

研究代表者

宗次 太吉（Munetsugu, Takichi）

防衛医科大学校（医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・皮膚科学・助教

研究者番号：90613555

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：無汗症患者において共焦点顕微鏡を用いてACh受容体の発現や細胞内内在化について可視化することができた。汗腺幹細胞数も無汗症患者で減少していた。機能面においてもACh受容体の内在化によって、シグナル伝達や細胞内Caの上昇に影響を及ぼすことが細胞内蛍光プローブを用いた実験により判明した。

AD患者の皮膚血流と発汗量の変動を測定では、AD患者では、交感神経負荷時の発汗波が多くの症例で消失していた。また皮膚血管運動反射による皮膚血流の低下はコントロールと同等であり有意差が認められなかった。皮膚血流変化（=皮膚血管運動反射）は健常人と同等であったため、汗腺腺房レベルでの障害が推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により無汗症患者でのアセチルコリンレセプターの発現や、幹細胞性の維持、細胞内シグナル伝達についてその一部を解明することができた。またアトピー性皮膚炎の乏汗は、交感神経節後線維の障害よりも汗腺腺房自体の障害による発汗低下が示唆された。発汗異常症の病態解析についてはこれまでにほとんど知見がなく未知の分野である。今回の結果を基に発汗異常症の病態による病型分類ができれば個別の患者に対し最適な治療を提供できる可能性があり、その意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：Using a confocal microscope, we could visualize the expression and intracellular internalization of ACh receptors in anhidrosis patients. The number of stem cells in the sweat glands also decreased in patients with anhidrosis. In experiments using calcium fluorescent probes, internalization of ACh receptors affected signal transduction and elevation of intracellular calcium.

According to measurement of skin blood flow and sweat volume, there is no impairment of postganglionic sympathetic fibers in AD, finally considered to be a disorder of the sweat glands.

研究分野：発汗異常症、皮膚アレルギー疾患

キーワード：発汗異常症 無汗症 アセチルコリン 汗腺幹細胞 特発性後天性全身性無汗症 皮膚血管運動反射
動物モデル アトピー性皮膚炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

掌蹠は掌蹠以外の皮膚と異なり毛包やランゲルハンス細胞(LC)が存在せずエクリン汗腺が多く、毛包と免疫機能が異なることが分かっている。よって掌蹠に限局する難治性皮膚アレルギー疾患である異汗性湿疹、アトピー性皮膚炎の汗疱様病変、掌蹠膿疱症などは、その特有の臨床症状から汗腺との関連性が考えられる。掌蹠部の汗腺は有毛部の汗腺とは異なる特異な自然免疫を含む免疫防御機構を備えている可能性がある。また近年、発汗異常がコリン性蕁麻疹やアトピー性皮膚炎様症状を生じる等、特定の皮膚疾患との関連が注目されている。

近年指定難病に認定された特発性後天性全身性無汗症(AIGA)は、発汗を促す環境下(高温、多湿)においてもほぼ全身の発汗がみられないため、容易にうつ熱や熱中症を起こしうる疾患であるが、これまでに発症のメカニズムは解明されていない。アトピー性皮膚炎(AD)では発汗量の低下が見られるが、その原因としては汗腺の機能低下のみならず自律神経機能の低下との関連が指摘されている。エクリン汗腺の皮膚交感神経活動は、交感神経性発汗反応と皮膚血管運動反射により形成され、通常は交感神経刺激に対して、皮膚血流は減少し発汗量は増加する反応を示す。AD患者において発汗変動と自律神経機能の関係性については不明な点が多い。

2. 研究の目的

掌蹠、有毛部の汗腺周辺の LC、Treg を主体に、DC-HIL を発現する抑制性樹状細胞、汗腺分泌部幹細胞、サイトカイン、抗菌ペプチドを含めた免疫機能を調べ汗腺が関与する掌蹠限局性皮膚アレルギー疾患、無汗症に伴うアレルギー症状の病態を解析する。

昨年、我々は汗腺に発現する汗腺特異的幹細胞の発現に注目して解析したところ、発現低下を認めたため、今回はさらに詳細な解析を実施した。

非侵襲的に測定が可能なレーザー皮膚血流計と発汗量測定器を用いて、AD 患者での発汗および自律神経機能について評価した。

3. 研究の方法

A)

汗腺を分離培養し、生理活性物質を測定する。また、サイトカインやケモカインで培養汗腺細胞を刺激しその挙動を検討する。

無汗症患者での汗腺分泌部での幹細胞性の維持について検討する。

汗腺分泌部でのアセチルコリン受容体の発現、細胞内カルシウム濃度の上昇について検討する。

無汗症患者の汗腺分泌部でのアセチルコリン受容体の細胞内内在化について検討する。

アセチルコリン M3 受容体を発現させた細胞に反応する自己抗体の検出を試みる。

掌蹠と他の有毛部比較：汗腺周囲に浸潤する細胞の解析、サイトカイン測定、DC-HIL 発現、DKK1(dickkopf1)遺伝子の発現の検討、抗菌ペプチド分泌の測定を行う。

DKK1 ダブルトランスジェニックマウス<掌蹠マウス>を疾患モデルマウスとし、部位特異的な免疫機構を解明する。

B)

当科外来を受診した手指に皮膚病変のない AD 患者 8 名と、対照 8 名について、掌握、暗算、深呼吸等に対する指尖部の皮膚血流と発汗量の変動を測定した。

4. 研究成果

A)

汗腺幹細胞の分離、培養、発現及び細胞内内在化、細胞内カルシウム濃度の上昇について、無汗症患者での汗腺分泌部での幹細胞性の維持について

無汗症患者において共焦点顕微鏡を用いて Ach 受容体の発現や細胞内内在化について可視化することができた

汗腺分泌部でのアセチルコリン (Ach) 受容体の

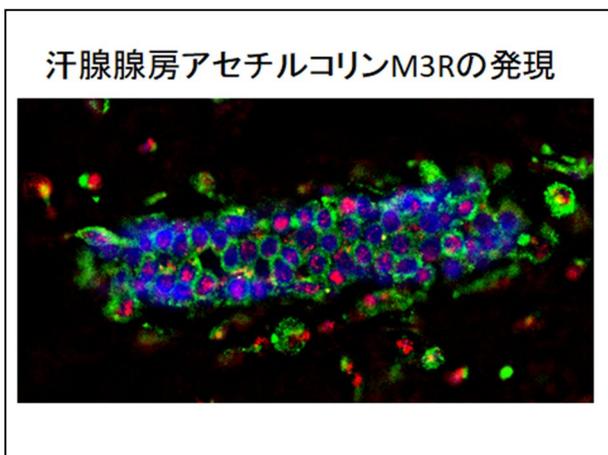


図 1) 汗腺腺房でのアセチルコリン M3 受容体の発現

汗腺幹細胞数も無汗症患者で減少していた。今後さらに症例数を増やして検討を行う予定である。

機能面においても Ach 受容体の内在化によって、シグナル伝達や細胞内 Ca の上昇に影響を及ぼすことが細胞内蛍光プローブを用いた実験により判明した。今後はマウスを用いた病態解析に注力したい。

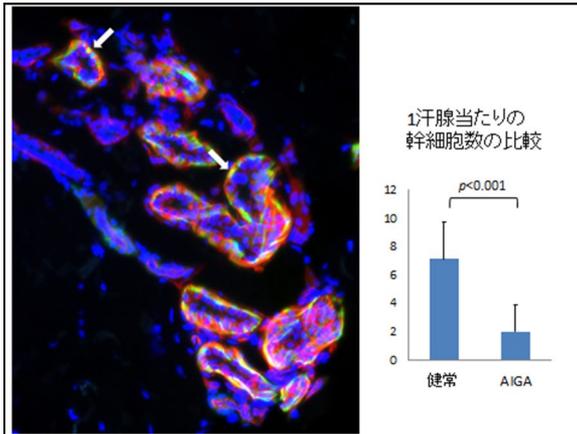


図 2) 無汗症患者での汗腺幹細胞数の比較

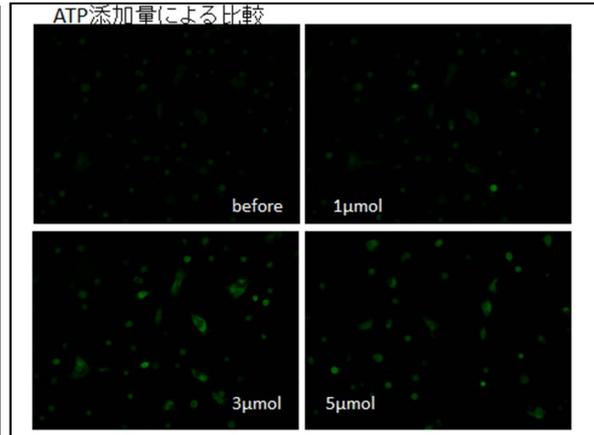
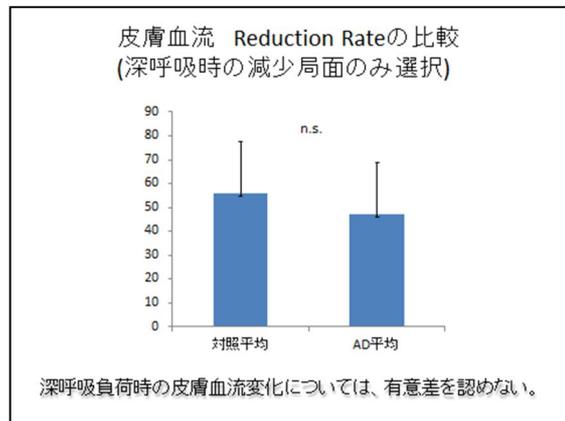


図 3) ATP 添加による細胞内 Ca 上昇の比較

B) AD 患者では、交感神経負荷時の発汗波が多く症例で消失していた。また皮膚血管運動反射による皮膚血流の低下はコントロールと同等であり有意差が認められなかった。皮膚血流変化 (= 皮膚血管運動反射) は健常人と同等であったため、汗腺腺房レベルでの障害が推定された。(図 4 : 右図)



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

- Dyshidrosis associated with diabetes mellitus: Hypohidrosis associated with diabetic neuropathy and compensated hyperhidrosis. Amano M, Namiki T, Munetsugu T, Nakamura M, Hashimoto T, Fujimoto T, Yokozeki H. J Dermatol. 2019 Mar 12.
- Image Gallery: Acquired anhidrosis associated with alcohol-related peripheral neuropathy, a potential cause of anhidrosis due to reduced innervation of eccrine glands. Nakamura M, Namiki T, Munetsugu T, Hashimoto T, Fujimoto T, Yokozeki H. Br J Dermatol. 2019 Feb;180(2):e35.
- Sweat glucose and GLUT2 expression in atopic dermatitis: Implication for clinical manifestation and treatment. Ono E, Murota H, Mori Y, Yoshioka Y, Nomura Y, Munetsugu T, Yokozeki H, Katayama I. PLoS One. 2018 Apr 20;13(4):e0195960.
- 東京医科歯科大学皮膚科を受診した外胚葉形成不全症患者の統計と検討
小見川 知佳, 藤本 智子, 宗次 太吉, 横関 博雄
発汗学 (1340-4423)25 巻 1 号 Page24-27 (2018.04)
- Basophils and mast cells are crucial for reactions due to epicutaneous sensitization to ovalbumin. Yu R, Igawa K, Handa Y, Munetsugu T, Satoh T, Yokozeki H. Exp Dermatol. 2017 Sep;26(9).
- Evaluation of the correlation between severity of acquired idiopathic generalized anhidrosis and quality of life scores. Munetsugu T, Fujimoto T, Satoh T, Nakazato

Y, Ohshima Y, Asahina M, Yokozeki H. J Dermatol. 2017 Jul;44(7):747-752.

- Revised guideline for the diagnosis and treatment of acquired idiopathic generalized anhidrosis in Japan. Munetsugu T, Fujimoto T, Oshima Y, Sano K, Murota H, Satoh T, Iwase S, Asahina M, Nakazato Y, Yokozeki H. J Dermatol. 2017 Apr;44(4):394-400.
- 特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン改訂版 中里良彦, 佐藤貴浩, 朝比奈正人, 横関博雄, 岩瀬敏, 室田浩之, 佐野健司, 藤本智子, 宗次太吉, 大嶋雄一郎「特発性後天性全身性無汗症診療ガイドライン」作成委員会、自律神経 52 巻 4 号 p352-359
- 無汗症から診断し得たサルコイドーシスの 1 例 上野真紀子, 宗次太吉, 花房崇明, 並木剛, 井川健, 横関博雄 発汗学 24 巻 1 号 Page22-24
- Cold-induced hyperhidrosis: possible association with hyper-IgE syndrome. Munetsugu T, Igawa K, Fujimoto T, Shibama S, Nishizawa A, Yokozeki H. Int J Dermatol. 2017 Feb;56(2):e42-e43.

〔学会発表〕(計 5 件)

アトピー性皮膚炎における指尖部の皮膚血流量および発汗量の測定による簡易自律神経機能評価
防衛医科大学皮膚科 宗次太吉、佐藤貴浩
第 118 回日本皮膚科学会総会 2019.6.6-9

• 指尖部の皮膚血流量および発汗量の測定による簡易自律神経機能評価 防衛医科大学皮膚科 宗次太吉、佐藤貴浩
第 68 回日本アレルギー学会総会 2019.6.14-16

• 無汗性外胚葉形成不全症のアレルギー疾患合併についての検討 小見川 知佳, 野老 翔雲, 古屋 亜衣子, 宗次 太吉, 宇賀神 つかさ, 藤本 智子, 並木 剛, 横関 博雄 第 47 回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会総会 2017.12.8-10

• 東京医科歯科大学皮膚科を受診した外胚葉形成不全症患者の統計と検討 小見川 知佳, 端本 宇志, 古屋 亜衣子, 宗次 太吉, 花房 崇明, 藤本 智子, 並木 剛, 井川 健, 横関 博雄 第 25 回日本発汗学会総会 2017/7/28-29

• 東京医科歯科大学皮膚科を受診した外胚葉形成不全症患者の統計と検討 小見川 知佳, 端本 宇志, 古屋 亜衣子, 宗次 太吉, 花房 崇明, 藤本 智子, 並木 剛, 井川 健, 横関 博雄 第 116 回日本皮膚科学会総会 2017.6.2-4

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者
なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 佐藤貴浩

ローマ字氏名: Takahiro Satoh

所属研究機関名: 防衛医科大学校

部局名: 皮膚科学講座

職名：教授

研究者番号（8桁）：30235361

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。