

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08306

研究課題名(和文) ストレスが円形脱毛症の病態に及ぼす影響についての科学研究

研究課題名(英文) Exploring the effects of stress on the development of alopecia areata

研究代表者

菅原 弘二 (Sugawara, Koji)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50634078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：肥満細胞は円形脱毛症やストレス応答において重要な役割を担う。ストレスホルモンであるcorticotropin releasing hormone (CRH) は毛包周囲の肥満細胞を活性化する。我々は以前、体内の恒常性維持作用を担う内因性カンナビノイド(EC)機構も肥満細胞を制御することを報告した。CRHやECが円形脱毛症の病態に関与していると考えられる。

拘束ストレスモデルマウスを用い、肥満細胞を評価したところ、同細胞の脱顆粒や数はストレスで有意に増加し、血中CRH濃度も上昇していた。ECの発現量も増加していた。CRHやECは円形脱毛症のkey playerであり、新規治療薬開発に応用できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

円形脱毛症の原因としては、組織学的には毛包に対する自己免疫反応が誘導されていることが分かっているが、なぜそのような反応が惹起されるのか分かっていない。一般的には、精神的ストレスが円形脱毛症の発症に関与すると認識されているが、精神的ストレスと円形脱毛症の関係に関しては、科学的には実はよく分かっていない。本研究では、精神的ストレスが円形脱毛症の病態に与える影響に関して、肥満細胞、ストレスホルモンであるCRH、過去に我々が報告した肥満細胞制御因子の一つである「内因性カンナビノイド」に焦点を当て研究を行った。本研究で得られた結果は、円形脱毛症に対する新規治療薬開発にもつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Mast cells play crucial roles in the development of alopecia areata (AA) and various types of stress responses. One of stress-related hormones, corticotropin releasing hormone (CRH) stimulates mast cells around the hair follicles. We have previously shown that endocannabinoid system, which is important for maintaining tissue homeostasis, regulates mast cell activity. Since mast cells are involved in patho-mechanism of AA, CRH and endocannabinoid could play roles in this disease.

Here, we have shown that both mast cell degranulation and its number are significantly increased within the skin of restraint stress model mice. The levels of CRH as well as endocannabinoid were also upregulated by stress. This indicates that CRH and endocannabinoid are key players in AA and those factors could be a target for developing novel therapies for AA.

研究分野：神経内分泌物質が肥満細胞に与える影響

キーワード：肥満細胞 毛周期 毛成長 アレルギー ストレス 神経内分泌

1. 研究開始当初の背景

難治性皮膚疾患である円形脱毛症は、後天性脱毛症の中で最も頻度が高い疾患である。臨床的な特徴としては、頭部など毛髪が存在する部位に、比較的境界が明瞭な円形の脱毛斑が、単発から多発性に出現する。脱毛斑は無治療で自然軽快するものから、様々な治療に抵抗性の難治性のもので多岐にわたる。毛髪は保温や感覚器としての機能など以外に社会的な役割も担っているため、脱毛症に罹患した患者が整容上の変化によって受ける精神的なストレスは計り知れない。

円形脱毛症の病態に関しては諸説あるが、いずれにしても本来免疫寛容器官である毛包の免疫寛容状態が何らかの原因によって破綻することで、自己免疫反応が惹起され、その結果毛包下部中心にリンパ球主体の炎症細胞が浸潤し、毛包が破壊される。

円形脱毛症の発症には精神的ストレスが深く関与していると言われている。しかし、実際のメカニズム、特にストレスがどのように自己免疫反応を誘導するのかに関しては不明である。近年、円形脱毛症病変部の毛包の炎症に、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患において重要な役割を担っている肥満細胞も浸潤していることが分かっている。同細胞は毛周期もコントロールするため、円形脱毛症の脱毛に何らかの役割を担っていることが示唆されている。さらに、肥満細胞はストレス状況下において活性化し、ストレス応答に深く関わっていることが分かっている。以前我々はストレス関連ホルモンである corticotropin releasing hormone (CRH) がヒト毛包周囲の肥満細胞の脱顆粒を促進させ、同細胞の数も増加させることを報告した。さらに我々は、ヒト体内の恒常性を維持する役割を担う内因性カンナビノイド機構も毛包周囲の肥満細胞を制御することを見出した。これらの事実から円形脱毛症の病態には、肥満細胞だけでなく、同細胞を制御する機能を持つ CRH や内因性カンナビノイドなども関与している可能性が考えられるが、これまでにそれらの関係を総合的に評価した研究はない。

2. 研究の目的

本研究では、上述のストレス関連ホルモンである CRH や内因性カンナビノイド機構などの影響を受け、かつ円形脱毛症の病態にも深く関与している肥満細胞に焦点を当てた研究を行う。特に、ストレス状況下において、肥満細胞がどのような影響を受けているのか、CRH や内因性カンナビノイドがどのような影響を受けているのかに関する研究を行う。

また、内因性カンナビノイド機構自体がストレスホルモンによる影響を受けることが過去に報告されており、ストレス-内因性カンナビノイド機構-肥満細胞に着目した研究も行う。

本研究によって、精神的ストレスに関連した円形脱毛症の病態を解明できるだけでなく、将来的に同疾患の予防や新たな治療法開発へと発展させることが可能となる。

3. 研究の方法

- (1) まず、我々は拘束ストレス負荷 (3 時間/日、7 日間連日) をマウス (12 週齢、Female C57BL/6N) に与えることによる、拘束ストレスモデルマウスを作成した。
- (2) 拘束ストレス負荷がマウスの行動にどのような影響を与えるのか、ストレスと密接に関係していると言われる搔破行動に焦点を当てて評価した。
- (3) 拘束ストレスを与えたマウスと対照群のマウスの皮膚を採取し、皮膚の肥満細胞の状態 (数や脱顆粒) がどのような影響を受けているのか組織学的 (トルイジンブルー染色) に評価した。
- (4) 拘束ストレス負荷によるストレスホルモンの状態を評価するべく、血中の CRH (CRF) の濃度を測定した。
- (5) ストレス負荷によって肥満細胞抑制因子である内因性カンナビノイド機構がどのような影響を受けているのかの研究を行った。

4. 研究成果

- (1) 拘束ストレス負荷群では、マウスの搔破行動が対照群に比較して促進している結果が得られた (図 1)。

- (2) 拘束ストレスマウス群の皮膚では、肥満細胞の数が、対照群に比較して有意に促進しており（図2、図3）、さらに同細胞の脱顆粒数も増加していた（図2、図4）。同細胞はヒスタミンなどを放出することでかゆみを誘導するが、この結果は、ストレス負荷によってマウスの掻破回数が増加していた結果（図1）を支持する。
- (3) 加えて拘束ストレス負荷群では、血中CRH濃度や皮膚内の同遺伝子発現レベルも対照群に比較して上昇していた。以上より、ストレス負荷によりストレス関連ホルモンであるCRFの発現が促進し、肥満細胞の活性化が誘導されることが示唆された（過去の我々の研究からCRFは皮膚肥満細胞を活性化することが証明されているため）。
- (4) さらに、ストレス負荷モデルマウスでは、代表的な内因性カンナビノイドであるAEAおよび2-AGの皮膚内での発現量も増加していた。

図1 マウス掻破回数

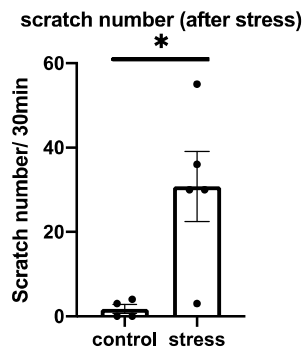


図2 トルイジンブルー染色

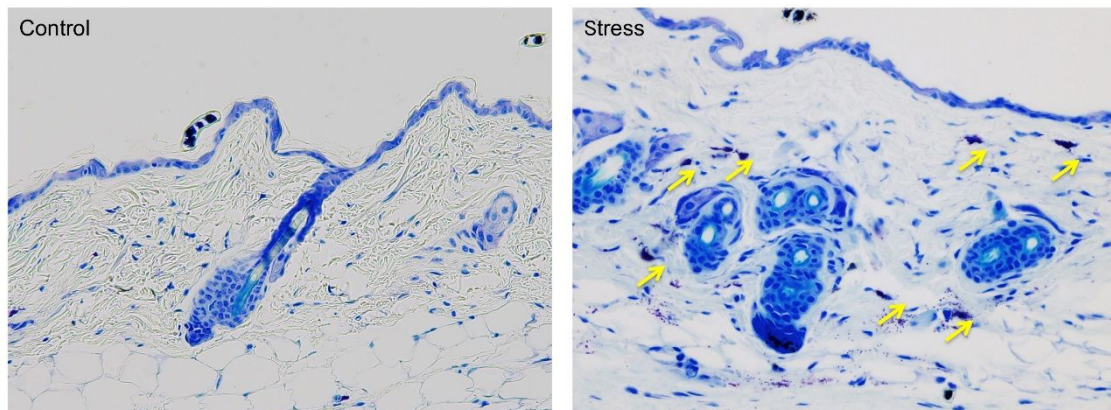


図3 肥満細胞数

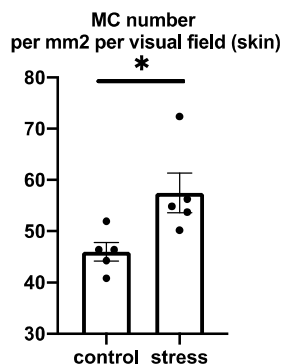
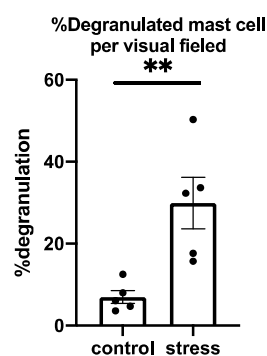


図4 脱顆粒肥満細胞数



以上から、ストレス負荷は皮膚の肥満細胞を活性化し、活性化した肥満細胞は、掻破行動を刺激するといった、機能的な影響を皮膚に与えることが示された（図1）。肥満細胞は毛包周囲にも多く存在し、円形脱毛症の病態にも関与しているため、ストレス負荷がCRFなどのストレス関連ホルモンを介して、円形脱毛症の発症や増悪に影響をおよぼす可能性が高いことが示唆される。

また、内因性カンナビノイドは過去の我々の研究から、活性化した肥満細胞を制御する作用がある。今回の研究から、ストレス下では、活性化した肥満細胞を抑制するべく、体内での内因性カ

ンナビノイドの発現量が反応性に増加する機構が存在する可能性があり、CRH や内因性カンナビノイドがストレス反応に複雑に関与していることが示唆される。

これらは円形脱毛症の病態において新たな key player であり、同疾患に対する新規治療薬開発に応用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 菅原 弘二	4. 巻 16
2. 論文標題 エンドクリノロジーと毛包免疫	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 皮膚アレルギーフロンティア	6. 最初と最後の頁 27-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Natsumi Aki, Sugawara Koji, Yasumizu Makiko, Mizukami Yukari, Sano Shigetoshi, Morita Akimichi, Paus Ralf, Tsuruta Daisuke	4. 巻 66
2. 論文標題 Re-investigating the Basement Membrane Zone of Psoriatic Epidermal Lesions: Is Laminin-511 a New Player in Psoriasis Pathogenesis?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Histochemistry & Cytochemistry	6. 最初と最後の頁 847 ~ 862
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1369/0022155418782693	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizukami Yukari, Hayashi Ryota, Tsuruta Daisuke, Shimomura Yutaka, Sugawara Koji	4. 巻 45
2. 論文標題 Novel splice site mutation in the LIPH gene in a patient with autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis: Case report and published work review	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 613 ~ 617
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.14257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Koji Sugawara
2. 発表標題 Neuroendocrine system in hair growth -Is cannabinoid receptor-related signaling a new regulator of hair biology?~
3. 学会等名 15th Annual Meeting of the Korean Hair Research Society・Seoul, South Korea（招待講演）
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 高市 美佳、菅原 弘二、鶴田 大輔
2. 発表標題 ストレスは肥満細胞、内因性カンナビノイドに影響を与える
3. 学会等名 第112回近畿皮膚科集談会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 高市 美佳、菅原 弘二、鶴田 大輔
2. 発表標題 精神的ストレスと肥満細胞～内因性カンナビノイドによる制御機構～
3. 学会等名 第83回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Mika Takaichi, Koji Sugawara, Ralf Paus, Daisuke Tsuruta
2. 発表標題 A novel regulator of mast cells under psychological stress～a neuroendocrine interaction between HPA axis and endocannabinoid system～
3. 学会等名 The 44nd Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Ayaka Okazaki, Koji Sugawara, Ayano Yonamine, Yukari Mizukami, Daisuke Tsuruta
2. 発表標題 Excimer laser stimulated epidermal stem cells and regulated mast cells number in organ cultured human skin
3. 学会等名 第13回日独皮膚科学会(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sayaka Togo, Koji Sugawara, Ralf Paus, Daisuke Tsuruta
2. 発表標題 17beta-estradiol may control human HF growth also via up-regulating the expression of cannabinoid receptor type1 expression
3. 学会等名 International Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関