

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：82612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16073

研究課題名（和文）アトピー性皮膚炎発症因子解明のためのラマン分光計を用いた乳児期角層の解析

研究課題名（英文）Analysis of the infantile stratum corneum using a Raman spectroscopy to elucidate the factors causing atopic dermatitis

研究代表者

吉田 和恵（Yoshida, Kazue）

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部・診療部長

研究者番号：70383776

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）：本研究では、新生児期から共焦点ラマン分光計による角層内因子の解析を行い、アトピー性皮膚炎・アレルギー疾患の発症との相関を解析することで、発症に關与する角層内因子を解明することを目的とする。初年度は、成人と比べて測定が困難である新生児、乳児における測定条件を検討し、データを安定して取得することに成功した。新生児、1ヶ月、4-8ヶ月の3群に分けると、角層水分量は新生児で最も低いのに對し、NMF、セラミド、コレステロールに関しては、新生児、1ヶ月、4-8ヶ月と成長とともに減少していく傾向がみられた。初年度に得られた測定条件を元に、0ヶ月から1歳まで継続的に測定する研究を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎の発症要因の一つに皮膚バリアの弱さがあり、新生時期からの皮膚バリアを補うことは、アトピー性皮膚炎発症予防のための新たな戦略となりうる可能性があるが、アトピー性皮膚炎を発症する児は発症しない新生児と比較して、皮膚バリア機能と關与する角層内因子で実際に何が不足しているのかは明らかとなっていない。新生児期から継続的にラマン分光計を用いて角層内因子を計測することで、アトピー性皮膚炎発症およびアレルギー疾患の予後の予測因子の発見が期待できる。将来的には、アトピー性皮膚炎発症群の角層内に不足する因子を新生時期から補うことが、新たなアトピー疾患予防戦略となる可能性があり、社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to analyze the intracorneal factors by confocal Raman spectroscopy from the neonatal period and analyze the correlation with the onset of atopic dermatitis and allergic diseases to elucidate the intracorneal factors involved in the onset. In the first year, we examined the measurement conditions for newborns and infants, which are more difficult to measure than adults, and succeeded in obtaining stable data. When divided into 3 groups of newborns, 1 month and 4-8 months, the water content of the stratum corneum is the lowest in newborns, while NMF, ceramide and cholesterol decrease with growth in newborns, 1 month and 4-8 months. Based on the measurement conditions obtained in the first year, we are continuing research to measure over time from 0 months to 1 year old.

研究分野：皮膚科学

キーワード：ラマン分光計 角層 新生児 乳児

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎の発症に、表皮最外層で角層バリアを制御しているフィラグリンの機能喪失変異が関与していること(Palmer, *et al.*, *Nat Genet.* 2006) が示唆され、表皮最外層に位置する角層バリアの理解がアトピー性皮膚炎の発症、病態を解明する重要要素と認識されている。アトピー性皮膚炎発症のリスクが高い乳児において、新生児期からの保湿剤の外用によりアトピー性皮膚炎の発症率が低下すること(Horimukai K *et al.*; *J Allergy Clin Immunol.* 2014)が報告され、新生時期からの皮膚バリア機能の補完は、アトピー性皮膚炎発症予防のための新たな戦略となりうることを示された。しかし、「アトピー性皮膚炎を発症する新生児は発症しない新生児と比較して、皮膚バリア機能、保湿機能と関与する角層内因子で実際に何が不足しているのか」は明らかとなっていない。従来、角層内因子は、テープストリッピングや溶媒を用いて角層を分析する侵襲的手法が取られていた。しかし、共焦点ラマン分光計を用いることで、非侵襲的に *in vivo* で角層水分量、天然保湿因子、尿素、ウロカニン酸、セラミド、コレステロールなどを、角層内の濃度勾配も含めて解析することが可能となった。過去に、共焦点ラマン分光計を用いて、アトピー性皮膚炎患者におけるフィラグリン遺伝子変異と天然保湿因子の相関(O'Regan, *et al.*, *J Allergy Clin Immunol.* 2010)、乳幼児では成人に比べて角層内の天然保湿因子が少ないこと(Fluhr *et al.*, *Br J Dermatol.* 2012) が示されているが、新生時期からの角層内の天然保湿因子、セラミド、コレステロール、アミノ酸、乳酸、尿酸、ウロカニン酸などの角層内因子とアトピー性皮膚炎発症および食物、吸入抗原への感作の相関を示した研究はない。乳児アトピー性皮膚炎はアレルギーマーチと評されるアレルギー疾患発症の始まりと考えられ、アトピー性皮膚炎発症およびアレルギー疾患の予後の予測因子の発見が期待できる。また、将来的には、アトピー性皮膚炎発症群の角層内に不足する因子を新生時期から補完することが、新たなアトピー疾患予防戦略となる可能性があり、社会的意義が大きい。

2. 研究の目的

本研究では、新生児期から共焦点ラマン分光計による角層内因子の解析を行い、アトピー性皮膚炎・アレルギー疾患の発症との相関を解析することで、アトピー性皮膚炎・アレルギー疾患の発症に関与する角層内因子を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、国立成育医療研究センターにおいて出生した新生児及び研究参加の同意を得た乳児を対象に、下記の方法により解析する。

【主要評価項目】上記対象者の無疹部(原則として前腕または下腿屈側)において、以下の検査を実施する。

1 共焦点ラマン分光計(以下ラマン計、オランダ River Diagnostic 社、モデル 3510)による角層水分量と、特定分子(天然保湿因子、尿素、ウロカニン酸、セラミド、コレステロールなど)の保有量測定を行う。

2 皮膚 pH: Skin-pH-Meter® PH905(CK Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany)

3 水分計(Delfin 社)

4 水分蒸散計(Delfin 社)

5 メラニン・紅斑インデックスメーター(CK Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany) 1-4 はアトピー性皮膚炎非発症群の平均値を算出することにより正常値(基準値)の検討を行う。

4. 研究成果

ラマン計を用いることで、非侵襲的に *in vivo* で角層水分量、天然保湿因子、セラミド、コレステロールなどを角層内の濃度勾配も含めて解析することが可能であるが、1回の測定に数分間測定部位を静止する必要がある。そのため、新生児、乳児では測定中に動いてしまうことが多く、成人と比較して安定した測定データを得ることが困難であった。初年度は、新生児、乳児における共焦点ラマン分光計による測定で安定した測定データを得るために、0ヶ月10名、1ヶ月7名、4-8ヶ月10名の新生児、乳児計27名を対象に、共焦点ラマン分光計による測定の測定条件を検討した。ラマン分光計では、測定間隔を倍にすると、測定時間を半分にすることができる。測定部位については、前腕、下腿屈側の2箇所を検討を行った。新生児、乳児ともに、前腕より下腿屈側の方が安定したデータを得ることができた。また、角層の測定間隔については、4 μ m 毎の測定でも2 μ m 毎の測定とほぼ同精度の測定データが得られることが明らかとなった。また、新生児、1ヶ月、4-8ヶ月の3群に分けると、角層水分量は新生児で最も低いのに対し、NMF、セラミド、コレステロールに関しては、新生児、1ヶ月、4-8ヶ月と成長とともに減少していく傾向がみられた。

初年度に得られた測定条件を元に、2019年度より各個人ごとに0ヶ月、1ヶ月、2ヶ月、6ヶ月

月、12ヶ月と継時的にデータを取得する研究を開始し、2021年3月時点で新生児50名のリクルートを完了している。そのうち、生後1ヶ月 46名、2ヶ月 46名、6ヶ月 45名の測定が終了した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 持丸奈央子, 安田葉月, 朴慶純, 小林徹, 山本貴和子, 大矢幸弘, 木内めぐみ, 黒河正司, 吉田和恵
2. 発表標題 ラマン分光計を用いた乳児期角層の解析
3. 学会等名 第43回日本小児皮膚科学会学術大会,
4. 発表年 2019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
---------	---------