

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659494

研究課題名（和文）メタボリックシンドローム対象者の皮膚障害に対するスキンケアの開発

研究課題名（英文）Development of skin care in metabolic syndrome patients

研究代表者

赤瀬 智子（AKASE TOMOKO）

東海大学・健康科学部・准教授

研究者番号：50276630

研究成果の概要（和文）：

本研究は、メタボリックシンドローム(MS)の皮膚障害の実態を把握しメカニズムを解明し科学的根拠のあるスキンケア開発を行うことを目的としている。MSモデルマウスの皮膚組織を解析したところ、真皮の非薄、皮下脂肪が肥厚、コラーゲン線維の変化が観察された。またMS皮膚は潜在的炎症状態であり紫外線に非常に感受性が高いことが明らかになった。そのメカニズムに酸化ストレスの関与が示唆された。スキンケアとして局所および全身に対しての抗酸化療法が有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to grasp the actual condition of impaired skin in metabolic syndrome (MS), to elucidate the mechanism, to develop Scientifically-based skin care. We analyzed the skin tissue of MS model mouse. As a result, the thinning of the dermis and thickening of the subcutaneous fat and change of the collagen were observed. MS skin was potentially inflammatory condition. In addition, the high sensitivity to UV was revealed.

Its mechanisms are involved in oxidative stress. Usefulness of antioxidant therapy in applied to the skin and oral administration has been found.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	0	1,900,000
2010年度	600,000	0	600,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	150,000	3,150,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：看護学・基礎看護学

キーワード：看護学

1. 研究開始当初の背景

近年先進国で肥満者が急増しており、メタボリックシンドローム(MS)への進展の予防が叫ばれている。肥満を改良することが生活習

慣病を防ぐ上で一番大切なことであり、健診等で早期診断や生活指導等が行われている。それでもなおかつ、MSは先進国で増加をたどり、内臓脂肪の蓄積と糖代謝異常、脂質代謝

異常および高血圧等の危険因子を重積し、後に致死的な動脈硬化や虚血性心血管疾患を高率に発症しているのが現状である。MSの背景には、食生活の欧米化による肥満の存在があり、肥満の研究はレプチン、アディポネクチン、アンジオテンシノーゲンをはじめ種々の生理活性物質が明らかにされ、肥満の病態は、今や分子レベルでとらえられるようになってきた。危険な状態への進展防止のためにその病態メカニズムの解明に目が行きがちであるが、その一方、MS対象者において、乾癬が多く発生している現状がある。乾癬は、慢性の炎症性角化症であり、強い掻痒があり、痛みを伴うこともある。また肥満者は50%以上に皮膚の炎症があるとの報告があり、その多くは治療が難しいと言われる乾癬、黒色表皮病変、毛孔性角化症、多毛症、有痛脂肪症等である。また、糖尿病患者は、皮膚の感染症を起こしやすく、創傷治癒を遅らせるとの報告もある。このようにMS対象者の皮膚には多く皮膚障害考えられ、MSの予防や治療の努力はあっても疾病が進展し、皮膚が障害され対象者のQOLが低下している人は多い。しかしながら、皮膚に関する検討はほとんどされていない。最近、MSと腎臓で電解質と水分を制御する働きを持つアルドステロンの関連が報告され心血管障害に深く関わる因子として注目されている。そのアルドステロンは酸化ストレスを惹起し臓器を障害したという。そこで、MS対象者においての皮膚障害とアルドステロンによる酸化ストレスとの関係に着目した。MSから起こる皮膚障害はアルドステロンが酸化ストレスを引き起こし皮膚の障害を起こすという仮説を検証し看護における必要な技術の開発を行う。

2. 研究の目的

本研究は、基礎医学的手法でMSの皮膚障害の実態を把握し、メカニズムを解明し、科学的根拠のある看護技術の開発を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

MS病態モデル動物としてTSOD (Tsumura, Suzuki, Obese Diabetes) マウス、そのコントロールとしてTSNO (Tsumura, Suzuki, Non-Obesity) マウスを使用しMS皮膚の検討を行った。またMSマウスに潜在する炎症所見が確認されたため、(2)

以降の研究は、炎症を惹起させるためTSODマウスに対し紫外線照射しTSNO, TSOD, TSNO+UV, TSOD+UV群の4群にて比較検討した。

(1)MS皮膚障害の実態把握：MSの病態変化と皮膚変化：TSODマウスの体重、血清成分測定、糖負荷試験、CTによる脂肪量測定、血圧測定、疼痛試験を行いMS状態の評価とした。皮膚変化はTSODマウス背部皮膚組織を採取しHE染色で観察した。炎症所見が確認されたためTNF- α の増加部位を免疫染色で確認、遺伝子発現量をRT-PCRで測定した。

(2)メカニズムの検討：

①酸化ストレス因子の関与：4群にて比較検討した。組織学的検討として酸化ストレスマーカーである80HdGの免疫染色、遺伝子発現量を酸化ストレスマーカーであるHO-1, 炎症性マーカーであるcox2をリアルタイムRT-PCR法にて測定した。

②肥満によるアルドステロン(Ad)濃度と皮膚ミネラルコルチコイドレセプター(MR)の関連性の検討：血清Ad濃度をRIA法にて測定し比較検討した。MR, Sgk1をリアルタイムRT-PCR法にて測定しMRとの関連性について4群にて比較検討した。

③特異的メカニズムの検討(酸化ストレスは皮膚MRを介するか)：TSODマウスに対しMRの存在を蛍光免疫染色法にて確認、共焦点顕微鏡にてMR核内移行像の観察を行った。

(3)看護技術の開発(スキんケア療法)

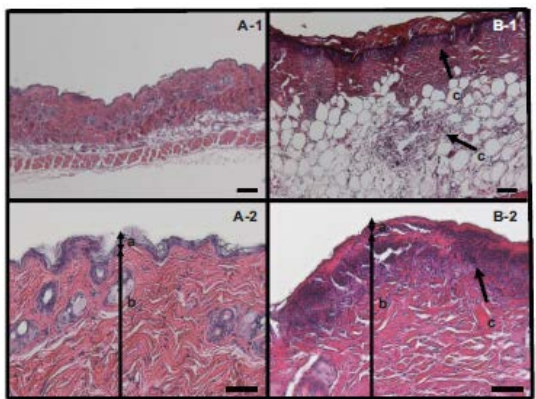
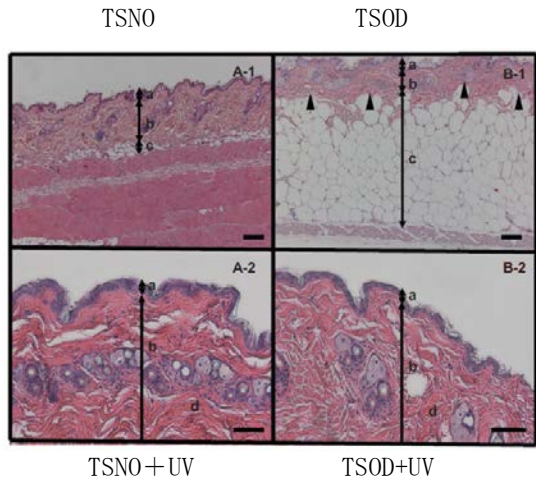
スキんケア技術として抗酸化療法を行い評価することにした。4群に対し局所療法として抗酸化塗布剤(1M Temple)および抗MR塗布剤(20% spironolactone)を作製し塗布し抗酸化作用を評価した。全身療法としてビタミンE(VE)経口投与による皮膚改善の評価を行った。組織学的検討としてHE染色、80HdG免疫染色し観察、分子生物学的検討としてHO-1, cox2をリアルタイムRT-PCR法にて測定した。皮膚脆弱性を皮膚引っ張り器を作成し引張度にて評価した。

4. 研究成果

(1)MS皮膚障害の実態把握：MSの病態変化と皮膚変化：

肥満を主体とし高血糖、インスリン抵抗性、脂質異常、高血圧、末梢神経障害状態が軽度な12週令TSODマウスをMS病態モデルとして皮膚障害を検証することとした。12週令TSODの背部皮膚をHE染色で観察したところ、真皮、表皮は非薄であり皮下脂肪が著しく肥厚していた。さらに×200で顕微鏡観察する

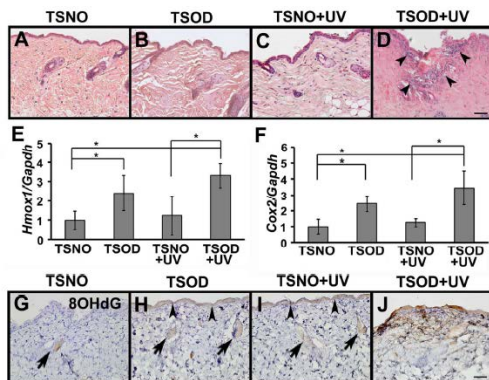
と TSNO より TSOD のコラーゲン線維の蛇行性の減少、繊維の断裂や密度の低下が観察された。また TSOD 背部皮膚組織において炎症性細胞浸潤は観察されなかったが、炎症で高値を示す TNF α の遺伝子発現量を RT-PCR で測定したところ、TSOD の TNF- α の遺伝子発現は、有意に増加していた。また増加した TNF- α が、組織のどの部位で増加しているかを免疫染色で確認したところ、TSOD の表皮部分であった。



(2)メカニズムの検討:

①酸化ストレス因子の関与:

TSNO より TSOD の方が皮膚の酸化ストレス 8OHdG が免疫染色において観察され、外的刺激である紫外線 (UV) 照射した TSNO+UV, TSOD+UV 群より更に著しい所見が観察された。また、皮膚の H0-1, Cox2 をリアルタイム RT-PCR 法にて測定した結果、両方とも有意に増加しており、UV 照射にてより著しく増加した。一方、抗酸化剤を塗布すると組織所見および同様なマーカの炎症・酸化所見が減少した。



②MS によるアルドステロン (Ad) 濃度と皮膚 ミネラルコルチコイドレセプター (MR) の関連性の検討:

TSNO に対し TSOD が高 Ad 濃度を示し、MR および Ad が MR を介し活性化される指標: Sgk1 の遺伝子発現量も増加していた。

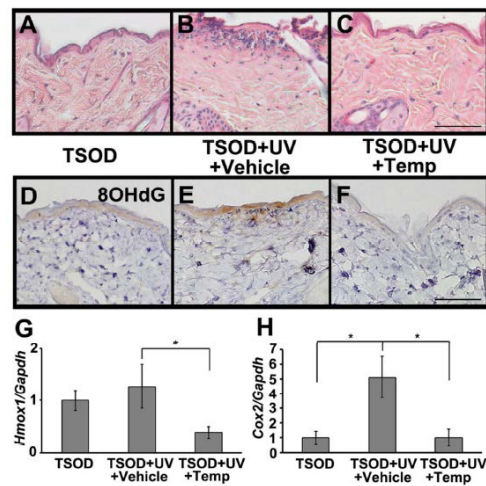
③特異的メカニズムの検討:

MS 皮膚に MR の存在および肥満により Ad が MR と結合すると核内移行する MR 核内移行像が確認できた。

(3)看護技術の開発 (スキンケア療法)

局所療法として抗酸化塗布剤 (1M Temple) および抗 MR 塗布剤 (20% spironolactone) を MS マウス皮膚に塗布したところ、Cox2 および Hmox1 の遺伝子発現量が有意に減少、また組織学的検討 (HE, 8OHdG) においても明らかに真皮層の炎症、酸化ストレスの減少が観察された。

MS 皮膚は皮下脂肪蓄積から皮膚を酸化させている可能性があるため、全身療法として VE3 か月間経口投与で皮下脂肪の Hmox1、皮膚のコラーゲンを分解する MMPs は有意に減少し皮膚の脆弱性も改善した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1) A Ibuki, T Akase, T Nagase, T Minematsu, G Nakagami, M Horii, H Sagara, T Komeda, M Kobayashi, T Shimada, M Aburada, K Yoshimura, J Sugama, H Sanada, Oxidative stress mediates skin fragility in obese diabetic mice, Experimental Dermatology, 査読有, 21(3), 2012,

- 178-183
- 2) Minematsu T, Huang L, Ibuki A, Nakagami G, Akase T, Sugama J, Nagase T, Yoshimura K, Sanada H, Altered expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in matured rat adipocytes in vitro *Biological Research for Nursing*, 査読有, Jun. 16, 2011
 - 3) Akase T, Nagase T, Huang L, Ibuki A, Minematsu T, Nakagami G, Ohta Y, Shimada T, Aburada M, Sugama J, Sanada H, Aging-Like Skin Changes Induced by Ultraviolet Irradiation in an Animal Model of Metabolic Syndrome., *Biological Research for Nursing*, 査読有, 14(2), 2011, 180-187
 - 4) Shimada T, Nagai E, Harasawa Y, Watanabe M, Negishi K, Akase T, Sai Y, Miyamoto K, Aburada M, *Salacia reticulata* inhibits differentiation of 3T3-L1 adipocytes, *Journal of Ethnopharmacology*, 査読有, 136(1), 2011, 67-74
 - 5) Akase T, Shimada T, Terabayashi S, Ikeya Y, Sanada H, Aburada M. Antiobesity effects of *Kaempferia parviflora* in spontaneously obese type II diabetic mice. *Journal of Natural Medicine*, 査読有, 65(1), 2011, 73-80
 - 6) Shimada T, Nagai E, Harasawa Y, Akase T, Aburada T, Iizuka S, Miyamoto K, Aburada M, Metabolic disease prevention and suppression of fat accumulation by *Salacia reticulata*, *Journal of Natural Medicine*, 査読有, 64(3), 2010, 266-274
 - 7) Akase T, Shimada T, Harasawa Y, Akase T, Ikeya Y, Nagai E, Iizuka S, Nakagami G, Iizuka S, Sanada H, Aburada M, Preventive effects of *salacia reticulata* on obesity and metabolic disorders in TSOD mice, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 査読有, 2009, 1-9, doi:10.1093/ecam/nep052

[学会発表] (計 13 件)

- 1) Sari Y, Minematsu T, Nakagami G, Akase T, Nagase T, Oe M, Mori T, Sugama J, Sanada H, Vibration attenuates the deterioration of deep tissue injury, 第 13 回日本褥瘡学会学術集会, 2011, 08. 27, 福岡国際会議場(福岡)
- 2) Sari Y, Minematsu T, Nakagami G, Akase T, Nagase T, Oe M, Mori T, Sugama J, Sanada H, Activation of MMP-2 and

MMP-9 during deterioration of deep tissue injury, 第 13 回日本褥瘡学会学術集会, 2011, 08. 27, 福岡国際会議場(福岡)

- 3) 峰松健夫, 黄麗娟, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 大江真琴, 長瀬敬, 須釜淳子, 真田弘美, 糖尿病ラットの皮膚創傷治癒過程における新生上皮の形態学的異常と Acylhomoseline lactone による改善, 第 40 回日本創傷治癒学会, 2010, 12. 02, 都市センターホテル(東京)
- 4) 峰松健夫, 山本裕子, 黄麗娟, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 長瀬敬, 大江真琴, 森武俊, 須釜淳子, 真田弘美, スキン・プロテイング〜皮膚内部の非侵襲的アセスメントツール, 第 20 回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会, 峰松健夫, 伊吹愛, 赤瀬智子, 仲上豪二朗, 黄麗娟, 長瀬敬, 須釜淳子, 真田弘美, メタボリックシンドロームにおける皮膚の形態学的特徴と皮下脂肪細胞の MMPs および TIMPs の発現異常, 第 39 回日本創傷治癒学会, 2009, 12. 08, 都市センターホテル(東京)
- 5) 峰松健夫, 伊吹愛, 黄麗娟, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 長瀬敬, 須釜淳子, 真田弘美. 培養脂肪細胞の成熟過程における MMP-8 の発現および活性の動態, 第 12 回日本褥瘡学会誌, 2010, 8. 12, 幕張メッセ国際会議場(千葉)
- 6) 飯坂真司, 須釜淳子, 大場美穂, 峰松健夫, 赤瀬智子, 真田弘美, 肥満者の皮膚状態の評価と減量との関連, 第 31 回日本肥満学会, 2010, 10. 02, 前橋プラザ元気 21 (群馬)
- 7) 赤瀬智子, 長瀬敬, 峰松健夫, 仲上豪二朗, 飯坂真司, 須釜淳子, 真田弘美, メタボリックシンドロームモデルマウスにおける皮膚障害と紫外線感受性, 第 31 回日本肥満学, 2010, 10. 01, 煥乎堂ホール(群馬)
- 8) 峰松健夫, 黄麗娟, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 大江真琴, 長瀬敬, 須釜淳子, 真田弘美, 糖尿病ラットの皮膚創傷治癒過程における新生上皮の形態学的異常と Acylhomoseline lactone による改善, 第 40 回日本創傷治癒学会, 2010, 12. 02, 都市センターホテル(東京)
- 9) 峰松健夫, 山本裕子, 黄麗娟, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 長瀬敬, 大江真琴, 森武俊, 須釜淳子, 真田弘美, スキン・プロテイング〜皮膚内部の非侵襲的アセスメントツール, 第 20 回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会, 2011, 05. 21, 金沢 21 世紀美術館(石川)
- 10) 山本裕子, 峰松健夫, 仲上豪二朗, 赤瀬智子, 大江真琴, 長瀬敬, 森武俊, 須釜淳子, 真田弘美, 浸軟皮膚における新し

いバリア機能評価法：ドットプロット法によるセラミドの測定，第20回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会，2011，05.21，金沢21世紀美術館(石川)

- 11) 杉本隆，峰松健夫，黄麗娟，仲上豪二郎，長瀬敬，赤瀬智子，大江真琴，森武俊，須釜淳子，真田弘美，糖尿病モデルラット皮膚全層欠損創の治癒過程における上皮化遅延とAquaporin3発現異常，第20回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会，2011，05.21，金沢歌劇座(石川)
- 12) 赤瀬智子，長瀬敬，伊吹愛，峰松健夫，仲上豪二郎，黄麗娟，浅田真弓，堀井素子，須釜淳子，真田弘美，肥満糖尿病マウス皮膚における潜在的炎症状態と酸化ストレスの関与，第20回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会，2011，05.21，金沢歌劇座(石川)
- 13) 伊吹愛，赤瀬智子，長瀬敬，峰松健夫，仲上豪二郎，堀井素子，大江真琴，森武俊，須釜淳子，真田弘美，肥満糖尿病マウスの皮膚の脆弱性における酸化ストレスの関与，第20回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会，2011，05.21，金沢歌劇座(石川)
- 14) S Yunita，峰松健夫，仲上豪二郎，赤瀬智子，長瀬敬，大江真琴，森武俊，須釜淳子，真田弘美，Establishment of Novel Model for Deterioration of Deep Tissue Injury in Rat，第20回日本創傷・オストミー・失禁管理学会学術集会，2011，05.21，金沢21世紀美術館(石川)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

赤瀬 智子 (AKASE TOMOKO)
東海大学・健康科学部・准教授
研究者番号：50276630

(2) 研究分担者

真田 弘美 (SANADA HIROMI)
東京大学・医学系研究科・教授
研究者番号：50143920

(3) 連携研究者

長瀬 敬 (NAGASE TAKASHI)
東京大学・医学系研究科・特任講師
研究者番号：00359613

(4) 連携研究者

峰松 健夫 (MINEMASTU TAKEO)
東京大学・医学系研究科・特任講師
研究者番号：00398752

(5) 連携研究者

須釜 淳子 (SUGAMA JUNKO)
金沢大学・保健学系・教授
研究者番号：00203307