

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08338

研究課題名（和文）アトピー性皮膚炎における精密スキンケアを目指したDeep phenotype研究

研究課題名（英文）Deep phenotype study for precision skin care in atopic dermatitis

研究代表者

川崎 洋（Kawasaki, Hiroshi）

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・上級研究員

研究者番号：70445344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：アトピー性皮膚炎患者の皮膚性状・バリアパラメータの解析から、アトピー性皮膚炎の皮膚バリア状態を3つのクラスターに大別し、皮膚細菌叢パターンとの関連付けを行なった。次に各クラスターと動物モデルの関連付けを実施した。突合された動物モデルの一つ、MC903塗布モデルを用いてBleach bath療法（0.005%次亜塩素酸Na含有浴）で治療されたアトピー性皮膚炎患者の皮膚細菌叢から同定した常在菌を活用したスキンケアの可能性を検討したところ、顕著な炎症抑制効果を認めた。これらの結果は、従来の保湿・保護剤を用いたスキンケアだけでなく、皮膚常在細菌によるスキンケアという新たな手法の概念実証につながる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スキンケアは、角層の水分保持を亢進させる保湿剤と、外来刺激物や抗原の表皮内への侵入を防ぐ保護剤の塗布、という発想でしか論じられることがなかった。本研究は、アトピー性皮膚炎患者の皮膚性状やバリア状態と皮膚細菌叢の密接な関連を明らかにし、細菌叢に介入することで皮膚の炎症や性状・バリア状態を改善させる新しいスキンケア手法の可能性を検証した研究である。また、ヒトアトピー性皮膚炎に関するDeep phenotype情報を統合解析して、多彩な患者の皮膚状態を層別化し、それを動物モデル情報と突合してリバーストランスレーションに最適なモデルを得るといふ、将来の多研究に応用可能な研究手法の有用性を示している。

研究成果の概要（英文）：Based on the analysis of skin characteristics and barrier parameters of patients with atopic dermatitis, the skin barrier status of atopic dermatitis was broadly classified into three clusters and associated with the skin flora pattern. Each cluster was then associated with an animal model. One of the animal models, the MC903 application model, was used to investigate the possibility of skin care using indigenous bacteria identified from the skin flora of atopic dermatitis patients treated with bleach bath therapy (bath containing 0.005% sodium hypochlorite) and a significant anti-inflammatory effect was observed. These results provide proof of concept for a new method of skin care using indigenous skin bacteria in addition to conventional skin care with moisturizers and protective agents.

研究分野：皮膚炎症

キーワード：アトピー性皮膚炎 皮膚細菌叢 皮膚バリア スキンケア

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎では皮膚バリアや皮膚細菌叢が病態に深く関与すると報告されスキンケアの重要性が高まる一方で、患者の皮膚性状やバリア状態、患者皮膚に特徴的な細菌種は患者間で異なることが明らかになりつつある。そのため、アトピー性皮膚炎患者にスキンケアを教育・実施する際は、肌状態とそれに応じた細菌叢シフトを考慮して、対象患者ごとにスキンケア手法を最適化する必要がある。しかし、現在のスキンケアは保湿・保護剤の画一的な塗布が実施されることが多い。

そこで患者の皮膚性状・特性に応じて患者を層別化し、層別化された集団ごとに季節による皮膚バリアへの影響や皮膚細菌叢の病態への関与を理解し、スキンケアや炎症抑制への効果を検証することが重要と考えられる。また、スキンケアの実施において皮膚細菌叢の観点から手法が提案されることはなかった。

2. 研究の目的

本研究では、健常人、アトピー性皮膚炎患者から取得した皮膚性状・バリアパラメータや臨床情報、皮膚細菌叢情報を統合した Deep phenotype データを解析することで、皮膚性状・バリア状態の多様性と、皮膚性状・バリアの違いが皮膚細菌叢にどのように影響しているかを明らかにする。そして、皮膚状態の違いにより層別化されたヒトアトピー性皮膚炎患者集団ごとに、マウスモデルデータとの比較により最適と考えられるマウスモデルを選択し、ヒト知見を選択したモデルにリバーストランスレーションすることで、新たなスキンケア手法の開発を目指した。本研究では、皮膚性状・バリアに基づき層別化されたグループが、黄色ブドウ球菌の増加を特徴とする異常細菌叢を示し、皮膚状態へ細菌叢の関与が予想されたため、ヒト研究知見を応用し、黄色ブドウ球菌の増加を抑制を目的とした常在菌投与によるスキンケア手法の効果、可能性について検証した。

3. 研究の方法

アトピー性皮膚炎・健常人の皮膚性状・バリア状態の統合解析

40名のアトピー性皮膚炎患者、39名の健常人より(年齢20-59歳)経皮水分蒸散量(TEWL)、角層水分量、油分量、摩擦抵抗力、弾力、皮膚表面pHを前腕と後頸部皮膚より計測された378サンプルのデータを使用し、非負値行列因子分解(NMF)を用いたパラメータの次元圧縮とDensMAPを用いたk-meansクラスタ分析を実施して、皮膚性状・バリアの層別化を実施した。

また、同時に皮膚パラメータ計測の近傍を皮膚スワブにより収集した皮膚擦過サンプルから16S rRNAシーケンシングを実施し、皮膚細菌叢データを取得し、皮膚性状・バリアクラスタとの関連解析を実施した。

本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会(承認番号:20150325,20160225)と理化学研究所倫理委員会(H28-24)の承認を受け、その倫理規定に準じて研究実施された。すべての研究は書面を用いて説明、同意取得された。

動物モデルとヒト研究知見の関連解析

動物モデルとして、MC903塗布モデルマウス、Tmem79K0マウスを用い皮膚バリアパラメータと皮膚スワブサンプルの16S rRNAシーケンスによる皮膚細菌叢情報を取得した。そして、で収集されたヒトの層別化されたクラスタとのデータに基づくモデルの選別を実施した。

MC903塗布マウスモデルへの細菌塗布による炎症抑制効果の検証

細菌塗布試験用に使用したMC903塗布マウスモデルでは、7週齢のBALB/cAJclに20 μ lのエタノールに溶解した1nmolのMC903(calcipotriol, Tocris Bioscience)をマウス耳介に1週間塗布した後、黄色ブドウ球菌を単回塗布して皮膚炎症を惹起するモデルを使用した。そして、筆者等がBleach bath治療を実施したアトピー性皮膚炎患者の解析から、皮膚炎症抑制とバリア維持に有用と考えられた12細菌種のカクテルを 2.0×10^7 CFUに調整して、4日間塗布をした後のマウス耳介厚を計測することにより、皮膚炎症抑制効果を検証した。また、コントロールとして、抗生物質(OZYN)や常在菌6菌の投与も実施した。(図1)

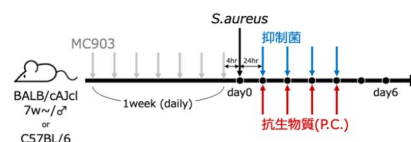


図1 細菌塗布スキンケアモデルの概要

4. 研究成果

アトピー性皮膚炎・健常人の皮膚性状・バリア状態の統合解析

40名のアトピー性皮膚炎患者、39名の健常人の皮膚性状・バリアパラメータをもとにクラスタ分析を実施したところ、図2aのような3つのグループに分類された。これらの特徴を詳細に解析したところ、グループAは中等~重症患者が多く含まれ、皮膚バリアの代表的指標であるTEWLを含む指標が高値を示した(図2b)。グループBは軽症~中等症の患者を含み、グループC

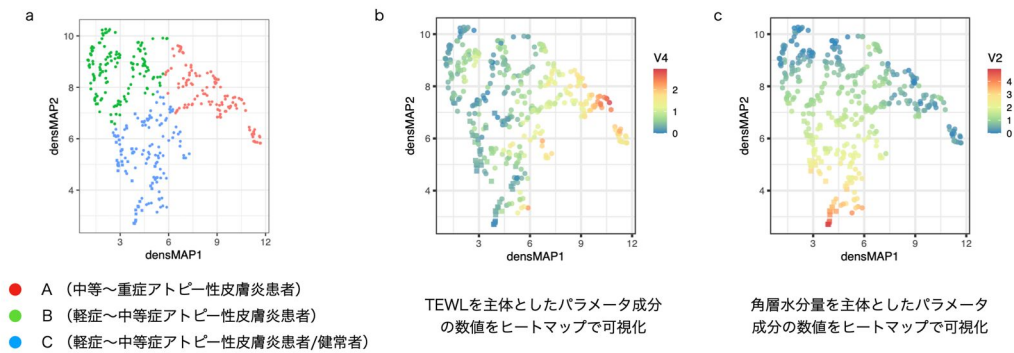


図2 皮膚性状・バリアパラメータにもとづくアトピー性皮膚炎皮膚のクラスタリングとその特徴解析

は軽症～中等症の患者に加え健常者を含んだ。また、角層水分量や油分を含む指標は、グループA,Bで低下していた(図2c)。

さらに、これらのグループと皮膚細菌叢や臨床情報、血液マーカーとの関連解析から、グループごとに病勢に影響すると考えられる因子、マーカーを検証した。その結果、グループBとCでは、黄色ブドウ球菌および皮膚細菌量の増加が病勢の悪化と関連していることがわかった。一方、グループCではIL-10, MMP-9に代表される炎症性サイトカインも病勢悪化に関連していることが示唆された。これらの結果から、皮膚性状に関するグループBは、TEWLが顕著な上昇を示さないが角層水分量や油分量の低下を示す特徴的バリア異常を認め、皮膚細菌叢異常との関係性が病勢の悪化に重要であると考えられた。

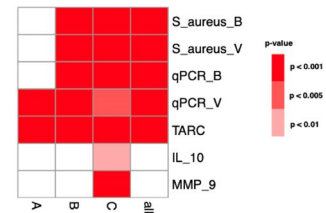


図3 皮膚性状クラスターと関連する因子

動物モデルとヒト研究知見の関連解析

今回、見出したヒトアトピー性皮膚炎患者のバリア状態を反映するアトピー性皮膚炎様マウスモデルを検証した。Spadeマウス(Yasuda, et al. JCI 2016)は皮膚炎形成前からTEWLの上昇を認め、角層水分量の低下とその後の強い皮膚炎形成を認める。今回分類したヒトアトピー性皮膚炎患者皮膚のグループAに近い状態が予想された。Tmem79K0マウス(Sasaki, et al. JACI 2013)はTEWL上昇が皮膚炎発症に先行し、その後角層水分量の低下や黄色ブドウ球菌の増殖を特徴とする異常細菌叢が皮膚炎症とともに顕著となる。そのため、グループA～Bに近い皮膚状態を呈していると考えられた。これに対して、MC903塗布マウスモデルは皮膚炎発症前の顕著なTEWL上昇が見られず、軽度の角層水分量低下を認めることから、グループB～Cに近い皮膚性状・バリア状態をとりながら皮膚炎形成を認めるモデルに相当すると予想された。

MC903塗布マウスモデルへの細菌塗布による炎症抑制効果の検証

MC903塗布マウスモデルはグループB～Cに近い皮膚バリア状態をとると考えられるため、皮膚細菌叢を標的としたスキンケアを検討するに有用なモデルと考えられた。また私たちは、アトピー性皮膚炎患者の皮膚細菌叢解析から、黄色ブドウ球菌と負の相関を示して増減する細菌種12種を同定していた。そこで、MC903塗布マウスモデルに黄色ブドウ球菌を塗布して皮膚炎を増悪させ、そこに12細菌種を混合投与することで皮膚炎症の改善につながるかどうかを検証した。

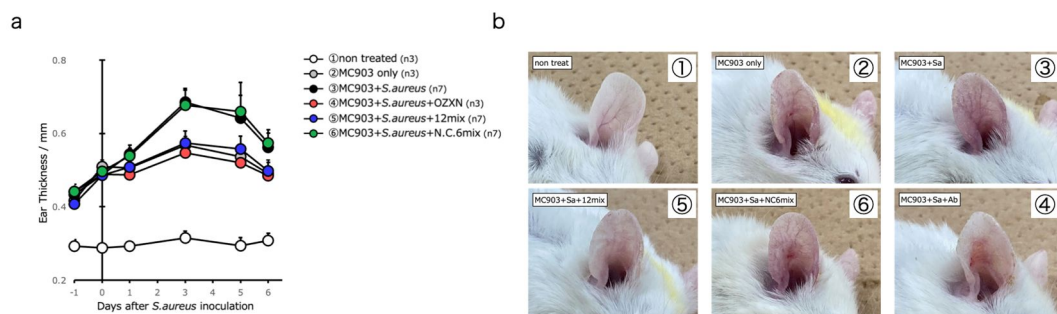


図4 皮膚常在菌を活用した皮膚炎抑制効果を検証したMC903マウスモデル研究結果

a. マウスの耳介厚計測による評価 b. マウスの皮膚炎所見による評価

MC903 を塗布すると、皮膚炎症を生じその結果として塗布部の耳介が肥厚する。このような状態の皮膚に黄色ブドウ球菌を塗布すると、顕著な皮膚炎悪化につながり、さらなる耳介肥厚として観察された（図4）。この結果は、グループB~Cの皮膚では黄色ブドウ球菌を主体とした皮膚細菌群の増殖が皮膚炎の増悪に密接に関連するという解析結果を反映する結果と考えられる。この黄色ブドウ球菌投与に伴う症状の増悪は、抗生剤OZYNの投与によりキャンセルされる。私たちは上述の皮膚常在菌12種の混合投与により黄色ブドウ球菌の増殖を抑え、炎症の改善につながるかどうかを確認した。その結果、ネガティブコントロールと使用した常在菌6種では炎症抑制効果が観察されなかった一方で、常在菌12種の混合投与は、耳介の肥厚を抗生剤投与と同程度に改善させた。この観察結果に一致して、実際の皮膚炎症症状も常在菌12種の投与では顕著な改善を認めることが観察された（図4）。

また、16SrRNA シーケンスによる治療後の耳介皮膚細菌叢解析から、常在菌12菌種は顕著に黄色ブドウ球菌の増殖を抑制していることが観察され（図5）これが炎症抑制効果の発現に寄与していると考えられた。

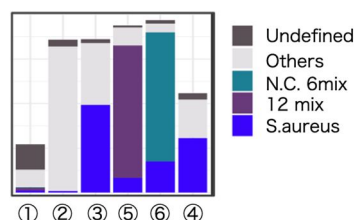


図5 動物モデル研究における、皮膚細菌叢組成解析結果

本研究では、皮膚の性状・バリア状態を把握するための多項目パラメータの計測情報と

臨床情報、皮膚細菌叢情報等をもとにした、Deep phenotype 解析を実施した。皮膚性状・バリア情報に基づき、アトピー性皮膚炎の皮膚状態を3つに分類した。そのうち2つのグループでは、黄色ブドウ球菌の増殖を特徴とした皮膚細菌叢異常が症状の悪化と深く関連していることが示唆された。私たちは、ヒト Deep phenotype に対応するマウスモデル情報から、ヒト研究知見をリバーストランスレーションするのに適した動物モデルを選定し、皮膚細菌叢を標的としたスキンケア手法として皮膚常在菌を用いた手法を、MC903 を塗布するモデルマウスを活用して検証した。そして、皮膚常在菌を活用するスキンケア手法がアトピー性皮膚炎患者の炎症や皮膚状態の改善につながる可能性を示した。

スキンケアは、角層の水分保持を亢進させる保湿剤と、外来刺激物や抗原の表皮内への侵入を防ぐ保護剤の塗布、という発想でしか論じられていない。本研究は、皮膚の性状やバリア状態と皮膚細菌叢の密接な関連を明らかにし、細菌叢に介入することで皮膚の炎症や性状・バリア状態を改善させる新しいスキンケア手法の提案につながる概念実証研究である。本提案を実用化に移すためには、安全かつ簡便な手法の考案が重要であり、病態理解を基盤とした適切な皮膚常在菌の選定と投与手法の検討が必要であり、今後の研究の継続・発展が求められる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Obata Shoko, Hisatsune Junzo, Kawasaki Hiroshi, Fukushima-Nomura Ayano, Ebihara Tamotsu, Arai Chika, Masuda Kanako, Kutsuno Shoko, Iwao Yasuhisa, Sugai Motoyuki, Amagai Masayuki, Tanese Keiji	4. 巻 11
2. 論文標題 Comprehensive Genomic Characterization of Staphylococcus aureus Isolated from Atopic Dermatitis Patients in Japan: Correlations with Disease Severity, Eruption Type, and Anatomical Site	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 523922
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.05239-22	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 -

1. 著者名 Tazro Ohta, Ayaka Hananoe, Ayano Fukushima-Nomura, Koichi Ashizaki, Aiko Sekita, Jun Seita, Eiryu Kawakami, Kazuhiro Sakuradaj, Masayuki Amagai, Haruhiko Koseki, Hiroshi Kawasaki	4. 巻 73
2. 論文標題 Best practices for multimodal clinical data management and integration: An atopic dermatitis research case	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 255-263
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2023.11.006	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kawasaki H
2. 発表標題 Deep-phenotype study focusing on the diversity of skin characteristics in atopic dermatitis
3. 学会等名 WAO & BSACI 2022 UK conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kawasaki H, Masuda K, Isayama J, Aoto Y, Obata S, Fukushima-Nomura A, Ito Y, Tanese K, Kawakami E, Amagai M.
2. 発表標題 The thirteen bacterial species inversely correlated with disease activities of atopic dermatitis in human showed a biotherapeutic potential based on their suppressive effects in mice.
3. 学会等名 The 51th Annual Meeting of European Society for Dermatological Research（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川崎洋
2. 発表標題 皮膚細菌叢解析知見を臨床応用するためのDeep phenotype研究
3. 学会等名 第121回日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川崎洋
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎診療に皮膚バリア知見を応用する
3. 学会等名 第85回 日本皮膚科学会東京支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川崎洋
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎のスキンケアと治療
3. 学会等名 第8回総合アレルギー講習会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川崎洋
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎診療や発症予防への応用を目指した皮膚細菌叢解析
3. 学会等名 第72回日本アレルギー学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2023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
---------	---------