

令和元年6月19日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20720

研究課題名(和文)皮下脂肪細胞に着目した肥満による真皮エラスチン減少のメカニズム解析

研究課題名(英文)The reduction mechanism of elastic fiber of dermis in obese.

研究代表者

榎原 弘子(Makihara, Hiroko)

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：00708696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：肥満は褥瘡有病率や創傷治癒遅延に関連があることが報告されている。しかしながらその発症メカニズムや予防ケア方法に関する研究は非常に少ない。本研究では、肥満による皮膚の脆弱化の予防にむけて、肥満が皮膚に及ぼす影響の中からエラスチン線維に着目して解析した。肥満モデルマウスの皮膚組織を解析し、エラスチン分解酵素であるNeprilysin(NEP)発現量の増加が明らかとなった。次に、ヒト皮膚組織を用いて検証した。その結果、日本人の軽度な肥満でも真皮のエラスチン線維が減少していることが示された。今後は、モデルマウスで見出したメカニズムを中心に、ヒト皮膚組織を解析し、予防法の確立につなげる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、日本人女性の腹部皮膚組織を解析しており、日本人に特徴的な軽度な肥満であっても真皮エラスチン線維が減少することが明らかとなった。肥満モデルマウスで明らかとならメカニズムを中心に、ヒト皮膚組織におけるエラスチン減少のメカニズムを明らかにすることは、皮膚の弾力性の低下や脆弱化への予防ケア方法の確立につながり、褥瘡や創傷治癒遅延といった臨床上の皮膚ケアを確立する際の重要な知見のひとつとなる。

研究成果の概要(英文)：Obesity is recognized as one of the risk factor on dermatologic diseases. However, the impact of obesity on the skin has received minimal attention despite its suspected critical role.

We determined whether elastic fibers decrease in the skin of obese. The abundance of elastic fibers of skin was reduced in obese mice. Fibrillin-1 mRNA levels in obese mice were significantly suppressed compared with those in lean mice, whereas neprilysin mRNA levels and immunohistochemical expression in obese mice were significantly increased, as compared with those in lean mice. The reduction in elastic fibers was suggested that initially caused by increased neprilysin and decreased fibrillin-1 expression.

In addition, I investigated skin elastic fiber among Japanese women of varying body mass index (BMI). The abundance of elastic fibers of skin was negatively correlated with BMI.

研究分野：薬理学 薬物療法学

キーワード：肥満 皮膚 エラスチン 脂肪

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

1. 研究開始当初の背景

肥満はメタボリックシンドロームなどの数多くの疾患の原因である。その予防および治療法に関する研究は世界的な規模で取り組まれており、我が国においても国民における関心は非常に高い。一方で、肥満はアトピー性皮膚炎や乾癬などの皮膚疾患の発症に関連することや、褥瘡有病率や創傷治癒遅延にも関連があることが報告されているものの、その発症メカニズムや予防ケア方法に関する研究は非常に少ないのが現状である。皮膚は外表を覆うバリアとしての機能を果たす重要な臓器であり、そのケアは健康維持の観点からも非常に重要である。

2. 研究の目的

本研究では、肥満により皮膚の脆弱性が惹起されるという点に着目し、真皮エラスチン線維の減少とその発症メカニズムを検証することで科学的根拠に基づくケア方法の開発へと応用することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 肥満モデルマウスの真皮エラスチン解析

肥満による真皮エラスチン線維の減少とそのメカニズムを明らかにするため、肥満モデルマウスを用いて皮膚組織を解析した。

肥満モデルマウスとして、多因子遺伝性で、加齢に伴い体重増加、糖代謝・脂質代謝異常、高血圧などを自然発症する TSOD マウスを、対照マウスとして TSNO マウスを用いた。さらに TSOD マウスに 4 週齢から 8 週間、高脂肪食 (20% ラード含有 MF 飼料) を摂餌させ、肥満を促進させた際の変化も解析した。

実験動物

4 週齢の TSNO マウスおよび TSOD マウスを用いて、普通飼料 (MF 飼料) 摂餌の TSNO 群および TSOD 群、高脂肪食 (20% ラード含有 MF 飼料) 摂餌の TSOD-HF 群の 3 群を設け、それぞれ 8 週間飼育した (n=18)。8 週目 (12 週齢) に解剖し、血液および背部皮膚組織を採取した。本研究は、横浜市立大学の動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

皮膚組織の解析

背部皮膚組織をパラフィン包埋し、5 μ m で薄切後、Hematoxylin & Eosin (HE) 染色および Elastic van Gieson (EVG) 染色を行った。

エラスチン減少のメカニズム解析

背部皮膚組織より抽出した RNA を用いて、エラスチン線維の形成および分解に関与する遺伝子の mRNA 発現量を RT-qPCR 法によって測定した。各遺伝子の発現量は β -actin の発現量で補正した。

Neprilysin (NEP) 発現量の解析

エラスチン分解酵素である NEP の遺伝子発現量は、肥満モデルマウスの背部皮膚組織に有意に上昇していたため、皮膚組織中の局在およびタンパク発現量の変動を免疫組織染色法で検証した。

(2) ヒト皮膚組織を用いた解析

乳房再建術を受けた日本人女性を対象とし (N=26 年齢 40-59 歳)、腹部の余剰皮膚組織を解析サンプルとして使用した。

真皮エラスチン線維の解析

ホルマリンで固定後パラフィン包埋して保存したサンプルを、5 μ m で薄切し EVG 染色を行った。Image J を用いて真皮網状層におけるエラスチン線維の面積を定量し、解析範囲に対する割合として数値化した。

NEP 発現量の測定

皮膚組織から抽出した RNA より cDNA を合成し、RT-qPCR 法を用いて NEP の発現量を解析した。内部標準遺伝子は、 β -actin を用いた。さらに、厚さ 5 μ m のパラフィン切片を作成し、蛍光免疫染色法で NEP の局在および発現量を解析した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて蛍光イメージを各部位 3 領域取得し、Image J を用いて蛍光輝度を測定した。

4. 研究成果

(1) 多因子遺伝性の肥満モデルマウスを使用して皮膚組織を解析した結果、肥満モデルマウスの皮膚では、真皮においてエラスチン線維の減少および断片化が生じており (図 1A)、またその原因として、エラスチン線維の構成成分である fibrillin-1 の発現低下および、分解酵素である NEP の発現上昇が認められた。NEP に関しては、免疫組織染色による解析から、表皮および皮下組織において発現が増加していることがタンパクレベルで示された (図 1B)。

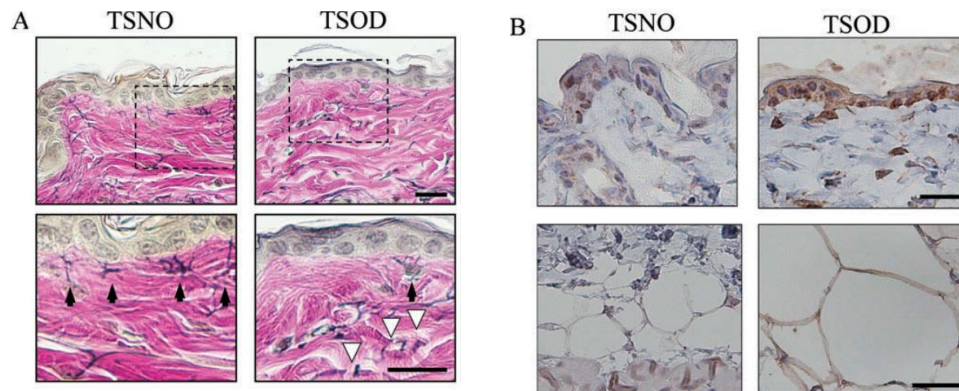
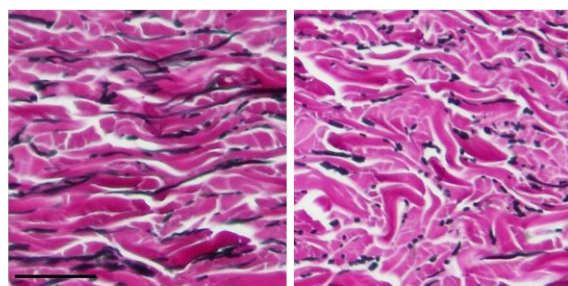


図1 TSNO マウスおよび TSOD マウスの背部皮膚組織の組織学的解析 (Connective Tissue Research 2017)

A: EVG 染色 (エラスチン線維: 黒) B:免疫組織染色 (NEP: 褐色)

(2)日本人女性の腹部皮膚組織を用いて、真皮網状層におけるエラスチン線維を解析した結果、エラスチン面積の割合と BMI の間に有意な負の相関関係が認められた。このデータは、欧米人と比較し軽度な肥満である日本人においても、真皮のエラスチンが減少していることを示す。免疫組織染色の結果、NEP のシグナルは主に表皮において観察された。しかしながら NEP 発現量の解析では、再現性のある定量結果を得るための解析条件を検討する必要がある。今後は表皮、真皮、皮下組織それぞれで NEP の発現量を定量し、真皮エラスチン線維の減少との関連について統計学的解析を実施していく。

Elastica van Gieson (EVG) Stain



BMI = 21.5

BMI = 32.5

Elastic fibers are shown in black and collagen fiber (bundles) in pink. Scale bar = 50 μm.

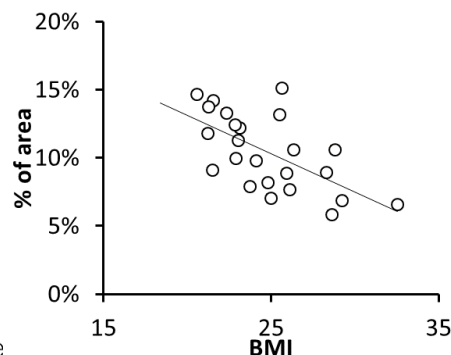


図2 日本人女性の腹部皮膚組織における真皮エラスチン線維

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Makihara H, Hidaka M, Sakai Y, Horie Y, Mitsui H, Ohashi K, Goshima Y, Akase T., Reduction and fragmentation of elastic fibers in the skin of obese mice is associated with altered mRNA expression levels of fibrillin-1 and neprilysin., Connective Tissue Research, 査読有, 58(5), 2016, pp.479-486.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 榎原弘子, 日高萌子, 坂井佑衣, 堀江良子, 五嶋良郎, 赤瀬智子
肥満2型糖尿病モデルマウスを用いた肥満に伴う真皮弾性線維の減少とそのメカニズム
第31回日本糖尿病・肥満動物学会 2017

2. 海賀一早, 相内みなみ, 榎原弘子, 赤瀬智子
ヒト皮膚組織に局在するエラスチン分解酵素 Neprilysin の肥満による発現変動
第41回日本分子生物学会 2018

〔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

6．研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

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。