

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K16347

研究課題名(和文)角層pHを利用したアトピー性皮膚炎の発症予測法および発症予防法の開発

研究課題名(英文) Develop new therapeutic strategies for atopic dermatitis, focusing on stratum corneum pH

研究代表者

酒井 貴史 (Sakai, Takashi)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：20624290

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)：アトピー性皮膚炎(AD)は、かゆみと繰り返す湿疹を特徴とする炎症性皮膚疾患で、その病態は未だ不明な部分が多い。本研究では、ADモデルマウスであるflaky tailマウス(FTM)を用いた実験を行った。FTMは角層pH恒常性維持機能に障害があり、加齢とともに皮膚炎を自然発症する事が知られている。研究代表者らは、FTMの皮膚炎に部位特異性があることを見出した。さらに、皮膚炎発症部と非発症部を比較、解析することで、同マウスの皮膚炎にperoxisome proliferator-activated receptor signaling pathwayの異常が関与している可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

flaky tailマウス(FTM)は頻用されているアトピー性皮膚炎(AD)モデルマウスである。同マウスの皮膚炎をより詳細に解析した本研究は、今後、FTMを利用したAD研究のさらなる発展に貢献することが期待される。併せて、FTMは角層pH調節機能の障害を持つ。従って、本研究成果は、角層pHと皮膚炎をつなぐ病態の一部を示している可能性がある。ADにおける角層pHの役割、病態意義はまだ不明な点が多いが、本研究で得られた情報は、将来的なAD診療における角層pHの臨床応用を構築する際に、有用な基礎情報となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Atopic dermatitis (AD) is chronic dermatitis characterized by itchy and relapsed eczema. The pathogenesis of AD is not fully understood. In this study, we investigated the pathogenesis of AD with flaky tail mice (FTM), an AD model mice. It is known that FTM has a problem maintaining stratum corneum pH and develops spontaneous dermatitis with age. We found that dermatitis on FTM revealed site-specificity. And this study demonstrated that peroxisome proliferator-activated receptor signaling pathway might contribute to the pathogenesis of FTM's dermatitis by evaluating site-specific dermatitis on FTM.

研究分野：皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎 炎症性皮膚疾患 角層pH

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 (atopic dermatitis, AD) は、かゆみと繰り返す湿疹を特徴とする最もありふれた炎症性皮膚疾患で、AD 患者は身体的、心理的苦痛に悩まされる。世界中で AD に関する無数の基礎研究、臨床研究が行われているが、未だ AD の病態が十分に解明されたとは言い難い状況である。本研究課題を着想した当時、研究代表者は角層 pH に着目し、AD の病態研究を行っていた。皮膚の最外層である角層の pH は通常弱酸性に保たれており、弱酸性維持がよりよい皮膚バリア機能の構築につながる事は、以前からよく知られている。研究代表者は、AD のモデルマウスである flaky tail マウスには、角層 pH の恒常性維持機能の障害があり、その事が flaky tail マウスの皮膚炎発症、増悪に関与していることを報告した (Sakai T, et al. J Dermatol Sci. 2014 Jun;74(3):222-228)。AD の病態における角層 pH の役割、病態意義については、まだ分かっていないことが多いが、角層 pH は AD の診療、治療により役立てる事が可能ではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究は角層 pH と皮膚炎との関連性を明らかにし、角層 pH を利用した AD の発症予測法、予防法開発へ発展させることを目的とする。角層 pH は通常弱酸性に維持され、pH 上昇に伴って皮膚バリア機能障害、2 型のアレルギー性炎症が誘発されることが知られている。研究代表者はこれまで動物実験で、AD の病態における角層 pH 恒常性機能および角層 pH 弱酸性維持の重要性を示してきた。そして角層 pH の恒常性維持機能に障害がある flaky tail マウスの皮膚炎をより詳細に検証し、AD の病態における角層 pH の役割を明らかにすることで、角層 pH を利用した AD の発症予測法および発症予防法開発を目指すことを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

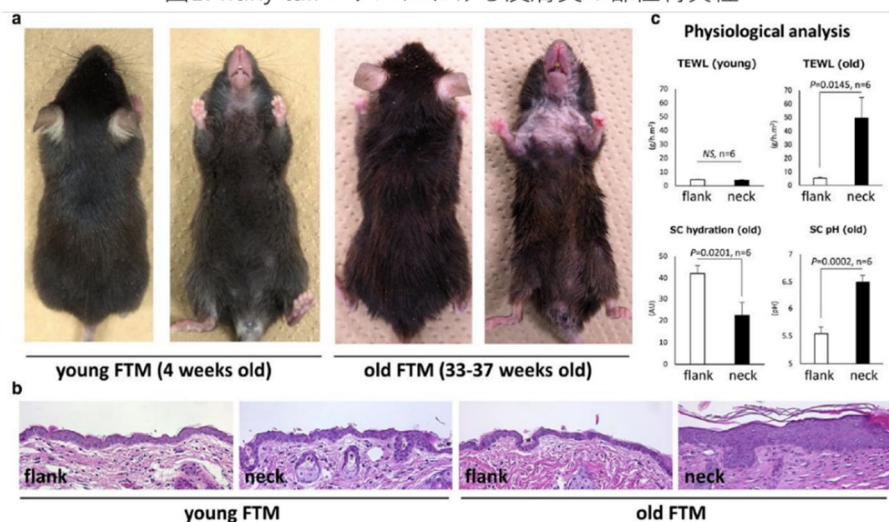
角層 pH の臨床応用を目指すにあたり、角層 pH 恒常性維持機能に障害のある flaky tail マウスの皮膚炎をより詳細に解析、検証した。flaky tail マウスは加齢とともに皮膚炎を自然発症するが、皮膚全体をよく観察すると、皮膚炎を自然発症する部位としない部位に分かれる。この現象に着目し、flaky tail マウス内の皮膚炎発症部と非発症部において、皮膚バリア機能や AD 関連分子の mRNA 発現など、比較、解析を行った。

4. 研究成果

(1) flaky tail マウスは加齢とともに部位特異的な皮膚炎を発症する

若い flaky tail マウスに明らかな皮膚炎は認められない。一方で、flaky tail マウスは加齢とともに部位特異的な皮膚炎を生じる。具体的に、高齢マウスでは頸部に明らかな皮膚炎を生じる一方で、背部皮膚は若年時と変化がない (図 1a、b)。そして、皮膚炎発症部では角層 pH および経表皮水分蒸散量の上昇を伴っている (図 1c)。

図1. flaky tailマウスにおける皮膚炎の部位特異性



Supplementary Figure S1. Clinicopathological and physiological findings of FTM. Apparent dermatitis developed only on the necks of old FTM among the four sites; flanks of young FTM, necks of young FTM, flanks of old FTM, and necks of old FTM were evaluated (a) clinically and (b) histologically. Increases in TEWL and SC pH and decreases in SC hydration were observed in the necks of old FTM compared with the flanks of old FTM, whereas (c) TEWL in the necks of young FTM did not increase. FTM, flaky tail mice; NS, not significant; SC, stratum corneum; TEWL, transepidermal water loss.

(2) flaky tail マウスの部位特異的な皮膚炎におけるトランスクリプトーム解析

flaky tail マウスの皮膚炎発症部と非発症部に対して、トランスクリプトーム解析 (マイクロアレイ) を実施した。全ての遺伝子発現情報を元に実施したクラスター解析では個体差が大きく、皮膚炎発症部と非発症部間において、AD の病態に関わる特定の傾向を見出す事が困難であった (図2)。一方で、AD 関連分子の発現のみに着目したところ、皮膚炎発症部では、thymus and activation-regulated chemokine の発現が有意に増強していた。さらに皮膚炎発症部で filaggrin の発現が増強し、filaggrin-2 の発現が低下していることが分かった (図3)。

図2. flaky tailマウスの皮膚炎におけるトランスクリプトーム解析

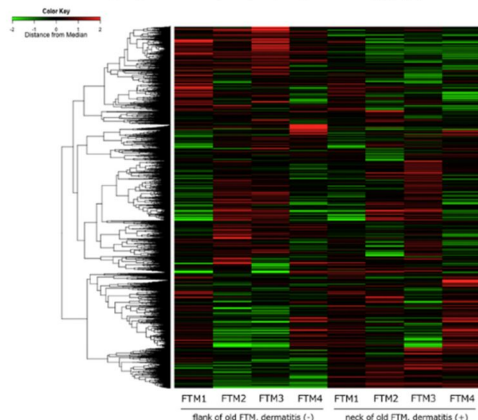


Figure 1. Heatmap of differential expression of all genes in the flank and neck of old FTM. Gene expression in the nonlesional flank and lesional neck of old FTM were measured through microarray, and a heatmap was generated as described in Supplementary Materials and Methods. The intensities of all genes assessed in this study are accessible through the Gene Expression Omnibus Series. Accession Number GSE124434 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE124434>). The difference between the flank and the neck is not clear, because the expression pattern in each mouse varies. FTM, flaky tail mice.

図3. flaky tailマウスの皮膚炎発症部におけるアトピー性皮膚炎関連分子のmRNA発現

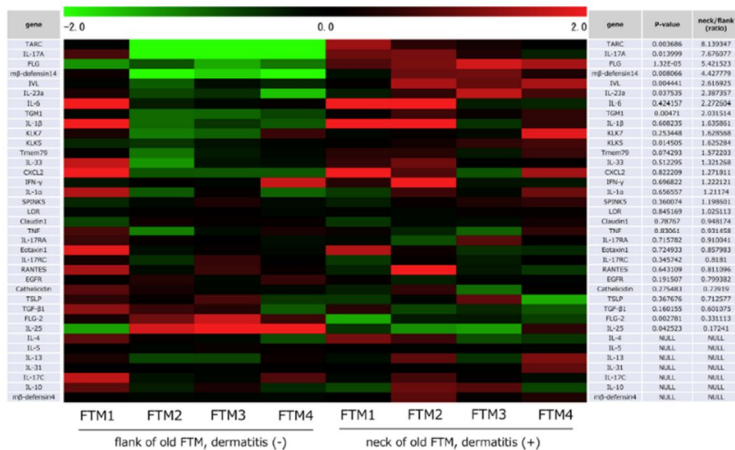


Figure 2. Heatmap of the predominant genes related to AD in the flank and neck of old FTM. The heatmap of the predominant genes related to AD was generated, and expression ratios (neck/flank) and P-values were calculated as shown in Supplementary Materials and Methods. The results were ordered by neck/flank ratio. TARC upregulation coincided with the emergence of dermatitis. The expression of Th2 cytokines was very low in FTM, and the expression of IL-17A was upregulated in the neck. The expression of FLG was significantly upregulated, whereas the expression of FLG-2 was downregulated in the necks of old FTM. AD, atopic dermatitis; FTM, flaky tail mice; Th2, T helper type 2.

(3) flaky tail マウスの皮膚炎に PPAR シグナル伝達経路の異常が関与している可能性

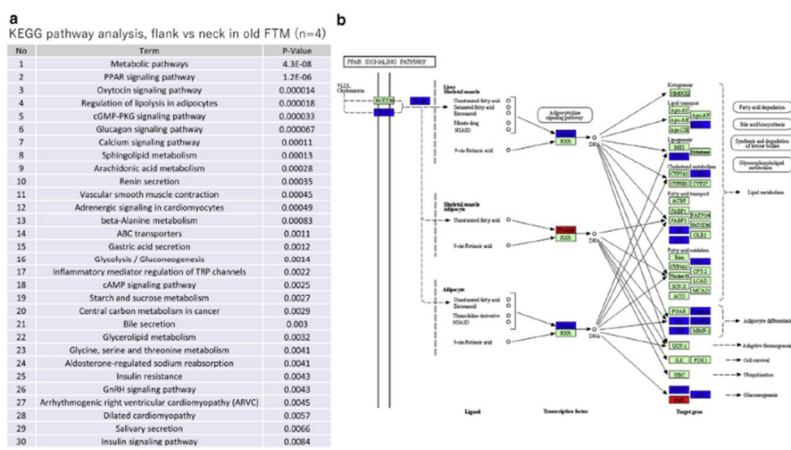
トランスクリプトーム解析の結果を利用して KEGG パスウェイ解析を行ったところ、peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling pathway が、上位に検出された (図4a)。PPARs は AD と関連の深い分子で、その関係性を示す複数の研究があり、過去に研究代表者もその研究に携わっている (Exp Dermatol. 2013 Sep;22(9):606-608)。さらに、PPAR シグナル伝達経路内の複数の分子において、皮膚炎発症部でその発現が下方制御されていることが判明した (図4b)。PPARs は角層 pH との関連が予測されている分子でもある。これらの研究結果から、角層 pH 恒常性維持機能障害を有する flaky tail マウスにおける自然発症皮膚炎に、PPAR シグナル伝達経路の異常が関与している可能性が示唆された。

補助事業期間内の、AD 診療における角層 pH 臨床応用には至らなかったが、本研究により flaky tail マウスにおける皮膚炎のより詳細な機序が明らかとなった。今後、同領域の研究がさらに発展し、AD 診療における角層 pH の臨床応用実現が望まれる。

< 引用文献 >

Sakai T, Aoki C, Mori Y, Yamate T, Matsuda-Hirose H, Hatano Y. Site-specific microarray evaluation of spontaneous dermatitis in flaky tail mice. *J Invest Dermatol* 139(12):2554-2557.e5, 2019.

図4. flaky tail マウスの皮膚炎発症部と非発症部におけるKEGGパスウェイ解析



Supplementary Figure S3. Results of KEGG pathway analysis with DAVID. KEGG pathway analysis was performed with DAVID as shown in Supplementary Materials and Methods. Some of the most statistically significant differences in old FTM were pathways involved in lipid metabolisms such as metabolic pathways and the PPAR signaling pathway. (a) The results of top 30 are shown. (b) Differences in gene expression in the neck compared with the flank of old FTM in the KEGG PPAR signaling pathway are shown (the blue panel indicates downregulated genes and the red panel indicates upregulated genes). Several genes in the pathway, including PPAR- α were downregulated. FTM, flaky tail mice; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takashi Sakai, Chinatsu Aoki, Yasuko Mori, Tomoko Yamate, Haruna Matsuda-Hirose, Yutaka Hatano	4. 巻 in press
2. 論文標題 Site-specific microarray evaluation of spontaneous dermatitis in flaky tail mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.04.024	査読の有無 有
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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takashi Sakai, Chinatsu Aoki, Yasuko Mori, Yutaka Hatano.
2. 発表標題 Site-specific microarray evaluation of spontaneous dermatitis in flaky tail mice
3. 学会等名 International Investigative Dermatology 2018（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
---------	---------