

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：32676  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2019～2021  
課題番号：19K08783  
研究課題名（和文）腸内細菌-皮膚ネットワークの構築を目指して；皮膚機能分子の新規制御機構の解明  
  
研究課題名（英文）New regulatory mechanisms of skin functional molecules via gut microbiota  
  
研究代表者  
五十嵐 信智（IKARASHI, NOBUTOMO）  
  
星薬科大学・薬学部・講師  
  
研究者番号：40409363  
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）：これまで、皮膚機能に及ぼす腸内細菌の影響については不明な点が多く残っていた。本研究の結果から、腸内細菌が皮膚の機能分子である「アクアポリン（AQP）」の発現量を制御している可能性が明らかとなった。また、腸内細菌によるAQPの発現変動は、腸内細菌代謝産物が関与している可能性が見出された。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、これまで不明であった皮膚疾患発症メカニズムとして、腸内細菌の変動が関与している可能性を示唆するものである。今後、新たな皮膚疾患治療薬として、プロバイオティクスやプレバイオティクスなどの腸内環境を制御する物質の応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：Many unclear points have remained regarding the effects of gut microbiota on skin function. From the results of this study, it was clarified that the gut microbiota may regulate the expression level of aquaporin (AQP), which is a functional molecule of the skin. It was also found that the change of AQP expression by gut microbiota may be related to gut microbiota metabolites.

研究分野：薬理学

キーワード：腸内細菌 皮膚 アクアポリン 短鎖脂肪酸

## 1. 研究開始当初の背景

近年、腸内細菌叢の変化が種々の疾患の発症に関与していることが明らかになりつつあり、その臨床応用への展開が期待されている。しかしながら、腸内細菌がどのようにして、これら疾患を引き起こしているのか、そのメカニズムについては不明な点が多く残っていた。このような中、我々の研究グループは、消化管疾患の発症における腸内細菌の役割について、下痢や便秘の発症に重要な役割を担っている大腸の水輸送タンパク質「アクアポリン (AQP)」に焦点を当て、解析を行ってきた。その結果、腸内細菌の有無により大腸の AQP3 の発現量が大きく変化すること、その発現変化が腸内細菌代謝産物に起因していること、さらに腸内細菌叢を是正するプロバイオティクスが AQP3 の発現変動を介して下痢を改善することが明らかとなった。これらの知見は、腸内細菌叢の変化に伴う消化管疾患の発症メカニズムを明らかにしたばかりではなく、生命活動に最も重要な「水」の移動に関わる AQP を、生体と共生している腸内細菌がコントロールしている可能性を示した非常に興味深いものであった。このような背景の中、本研究の代表者は、腸管ばかりではなく、全身の AQP の発現量も腸内細菌がコントロールしており、AQP と腸内細菌との関連性が明らかになることにより、これまで腸内細菌との関連性が不明であった種々の疾患の発症機構に対して、新たなメカニズムを提唱できるのではないかと考えた。

研究代表者は、上述した点を解決するにあたり、腸内細菌との関連が示唆されている疾患の中から皮膚疾患に着目した。これまで、腸内細菌と皮膚との関係については様々な報告があり、これらの研究は腸管免疫に主眼を置いたものが多かった。しかしながら、その全容解明には至っておらず、特に、短鎖脂肪酸や胆汁酸などの腸内細菌代謝産物が皮膚機能に及ぼす影響についてはほとんどわかっていなかった。また、皮膚には多くの AQP が存在し、水分保持や創傷治癒などの皮膚機能に重要な役割を担っているものの、皮膚の AQP と腸内細菌との関連については全く不明であった。そこで本課題では、皮膚の AQP に着目し、その発現制御機構における腸内細菌の役割を明らかにする中で、『腸内細菌 - 皮膚機能』ネットワークを構築することを目指した。

## 2. 研究の目的

上述した通り、これまでに腸管内の事象である「腸内細菌」と、体の最外層である「皮膚」に発現している機能分子 AQP との関係については不明であった。そこで本研究では、上述した学術的背景をもとに、腸内細菌と皮膚 AQP との関係を明確にする中で、腸内細菌が皮膚機能に影響を及ぼす新たな分子メカニズムを見出すことを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 種々のモデルマウスを用いた皮膚における AQP の発現変動

#### 抗がん剤による皮膚乾燥と AQP との関係

EGFR チロシンキナーゼ阻害剤であるエルロチニブをマウスに 14 日間経口投与し、皮膚角質水分量を測定した。皮膚における保湿機能調節関連遺伝子、p-EGFR および p-ERK の発現量を解析した。さらに、ヒト表皮角化細胞である HaCaT 細胞にエルロチニブを添加し、AQP3、p-EGFR および p-ERK の発現量を解析した。

#### 老化における皮膚機能と AQP との関係

3 ヶ月齢および 20 ヶ月齢の HR-1 ヘアレスマウスをそれぞれ若齢マウスおよび加齢マウスとし、皮膚水分蒸散量および角質水分量を測定した。また、皮膚における AQP の発現量を解析した。

#### 糖尿病発症時における AQP の発現解析

ストレプトゾトシン (STZ) 誘発 1 型糖尿病モデルマウスを作成し、皮膚の乾燥と AQP3 の発現量との関係について解析した。また、5 週齢および 12 週齢の db/db マウスおよびその対象動物を用いて、皮膚の乾燥と AQP3 の発現量との関係も調べた。

### (2) 老化時の皮膚 AQP と腸内細菌との関係 ~ ノトバイオシステムを用いた解析 ~

2 ヶ月齢および 15 ヶ月齢のマウスをそれぞれ若齢マウスおよび老齢マウスとし、腸内細菌叢を解析した。また、腸内細菌が存在しない GF マウスにこれらマウスの糞を移植し、各種皮膚機能調節関連分子の発現量を調べた。

### (3) 腸内細菌代謝産物における AQP の発現変動

ヒト表皮角化細胞である HaCaT 細胞に、各種腸内細菌代謝産物を添加し、一定時間後に AQP3 の発現量を解析した。

#### (4) 皮膚の AQP の発現量を変動させる天然物の探索

##### カンナビジオールによる皮膚 AQP の発現変動

カンナビジオール溶液をマウスの皮膚に 14 日間連日塗布した。処置終了後、角質水分量を測定するとともに、皮膚の状態を観察した。また、皮膚保湿に関連する遺伝子の発現量を解析した。

##### 限笹エキスによる皮膚 AQP の発現変動

マウスの皮膚に限笹エキスを 14 日間塗布し、15 日目に角質水分量を測定した。また、皮膚における AQP3 の発現量を解析した。

#### 4. 研究成果

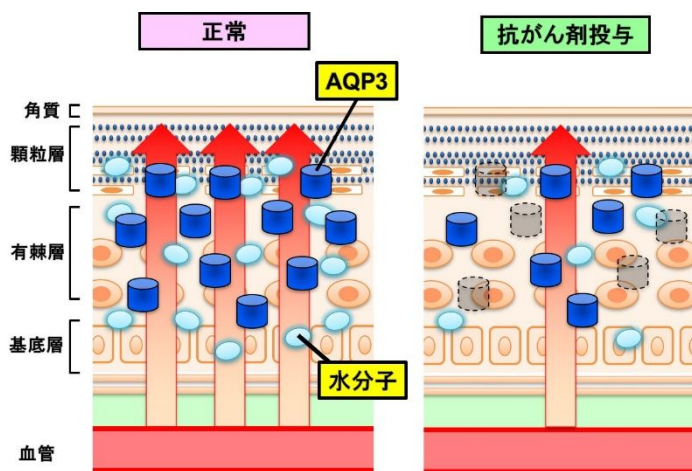
##### (1) 種々のモデルマウスを用いた皮膚における AQP の発現変動

##### 抗がん剤による皮膚乾燥と AQP との関係

抗がん剤である EGFR チロシンキナーゼ阻害剤は、副作用として皮膚の乾燥が多発する。しかしながら、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤による皮膚乾燥メカニズムはほとんどわかっていなかった。皮膚乾燥が原因で本薬剤の投与が中止となる場合があることから、そのメカニズムを把握し、適切に処置することが重要となる。そこで、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤による皮膚乾燥メカニズムについて、皮膚の AQP に焦点を当て解析を行った。

EGFR チロシンキナーゼ阻害剤の一つであるエルロチニブをマウスに経口投与したところ、皮膚角質水分量がコントロール群と比べて有意に低下した。皮膚保湿機能調節関連遺伝子の発現量を調べたところ、エルロチニブ投与群では、皮膚の AQP3 のみがコントロール群に比べて有意に低下していることがわかった。ヒト表皮角化細胞である HaCaT 細胞にエルロチニブを添加したところ、細胞毒性が見られない濃度において、AQP3 の mRNA 発現量およびタンパク質発現量がいずれも低下した。また、HaCaT 細胞およびマウスの皮膚のいずれにおいても、エルロチニブの処置により、p-EGFR および p-ERK の発現量がいずれも有意に低かった。

以上の結果から、エルロチニブによる皮膚乾燥は、皮膚における AQP3 の発現低下により、血管側から角質側への水の移動が制限された結果、引き起こされている可能性が考えられた。また、AQP3 の低下は、エルロチニブによる EGFR の活性阻害を介した ERK の抑制に起因している可能性が示唆された。したがって、エルロチニブによる皮膚乾燥に対しては、AQP3 を増加させる物質が有効であると考えられた。



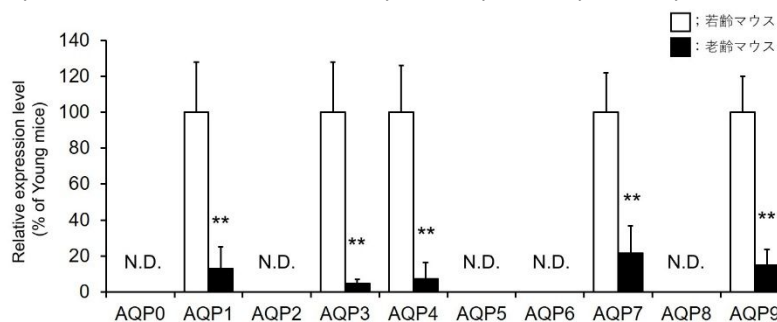
皮膚における AQP3 の機能

##### 老化における皮膚機能の変化と AQP との関係

加齢時には皮膚機能が低下し、この際に、角質水分量が低下することが知られている。しかしながら、加齢に伴う皮膚乾燥メカニズムの全容は不明のままであった。そこで、加齢時の皮膚乾燥メカニズムについて、AQP に着目し、解析を行った。

皮膚水分蒸散量は、若齢マウス (3 ヶ月齢) と加齢マウス (20 ヶ月齢) との間で差は認められなかった。これに対して、加齢マウスの角質水分量は若齢マウスに比べて有意に低く、皮膚の乾燥が認められた。解析した AQP のうち、皮膚においては AQP1、AQP3、AQP4、AQP7 および AQP9 の発現が確認できた。これら AQP の mRNA 発現量はいずれも加齢マウスでは有意に低下していた。皮膚に優位に発現している AQP3 については、タンパク質レベルにおいても、加齢マウスでは若齢マウスに比べて有意に低下していた。

以上の結果から、加齢に伴い、皮膚の AQP3 の



老齢マウスにおける皮膚 AQP の発現変化

発現量が低下することが見出され、これが皮膚乾燥要因の一つになっている可能性が考えられた。今後、**AQP3**の発現増加物質が見出されることにより、加齢に伴う皮膚乾燥に対して、新たな予防法や治療法が提案できるものとする。

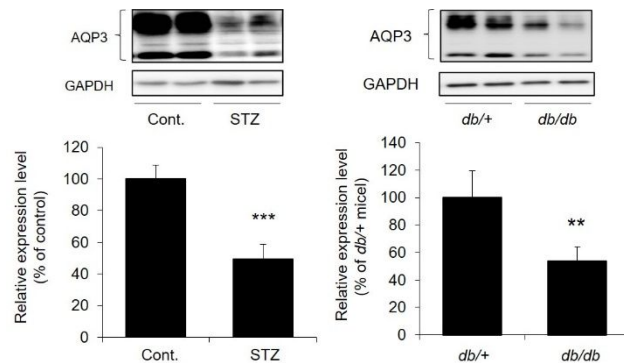
#### 糖尿病発症時における**AQP**の発現解析

乾皮症は、糖尿病患者に頻発する合併症の一つであり、患者の**QOL**を低下させる。そこで、糖尿病性乾皮症の新規予防法や治療法の提案を目指し、皮膚の水分保持に重要な役割を担っている**AQP3**に焦点を当て、解析を行った。

**STZ**誘発**1**型糖尿病モデルマウスの皮膚水分量は、コントロールマウスと比べて有意に低下していた。また、皮膚**AQP3**の発現量は、**mRNA**レベルおよびタンパク質レベルのいずれにおいても、糖尿病モデルマウスではコントロールマウスと比べて有意に低かった。

**2**型糖尿病**db/db**マウスを用いて同様に解析した結果、糖尿病を発症していない**5**週齢の**db/db**マウスは、角質水分量および皮膚**AQP3**の発現量は、コントロールマウスとほぼ同程度であった。これに対して、糖尿病の発症が確認できた**12**週齢の**db/db**マウスでは角質水分量が低下し、皮膚における**AQP3**の発現量が有意に低値を示した。

以上の結果から、糖尿病時には皮膚**AQP3**が低下し、これに伴い、皮膚の乾燥が引き起こされている可能性が考えられた。



糖尿病時における皮膚**AQP3**の発現変化

#### (2) 老化時の皮膚**AQP**と腸内細菌との関係～ノトバイオシステムを用いた解析～

上述した結果から、種々の病態や薬物処置による皮膚機能の変化と、その際の皮膚**AQP**の発現変化ならびに役割が確認できた。そこで次に、腸内細菌と皮膚**AQP**とのインターアクションを解析する目的で、腸内細菌が変動することが知られており、かつ皮膚**AQP**の変動が確認できた老齢マウスを用いて、種々検討した。

腸内細菌が存在しない**GF**マウスに老齢マウスの糞を移植するノトバイオシステムを用いて、皮膚機能調節関連分子の発現量を解析した。腸内細菌を門レベルで解析した結果、老齢マウスでは若齢マウスと比べて、**Firmicutes**門の腸内細菌量が有意に高かったのに対して、**Bacteroidetes**門、**Proteobacteria**門および**Actinobacteria**門が有意に低いことが明らかとなった。また、次世代シーケンサーにより腸内細菌叢を網羅的に解析した結果、老齢マウスと若齢マウスとの間に相違が認められた。老齢マウスの糞便を**GF**マウスに移植した結果、皮膚における**AQP3**の発現量が、若齢マウスの糞便移植したマウスに比べて有意に増加することが明らかとなった。また、セラミド分解酵素、セラミド合成酵素、ヒアルロン酸分解酵素、コラーゲンについても、老齢マウスの糞便を移植したマウスのほうが有意に高値を示すことがわかった。

以上の結果から、加齢に伴って変化する腸内細菌が、**AQP**をはじめとする皮膚機能を調節する遺伝子群の発現量をコントロールすることが明らかとなった。

#### (3) 腸内細菌代謝産物における**AQP**の発現変動

続いて、腸内細菌による皮膚**AQP**の発現調節機構について、腸内細菌代謝産物に注目し、検討を行った。**HaCaT**細胞を用いた解析の結果、皮膚に最も多い**AQP3**の発現量が、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸であるプロピオン酸や酪酸によって制御されていることが明らかとなった。したがって、腸内細菌叢の変動は、その代謝産物の量を変化させ、最終的に皮膚の**AQP**を変動させ、これが原因で種々の皮膚疾患が発症している可能性が示唆された。

#### (4) 皮膚の**AQP**の発現量を変動させる天然物の探索

上述した研究結果から、皮膚の**AQP**と腸内細菌との関わり、ならびに皮膚機能の維持における**AQP**の重要性が見出された。そこで最後に、皮膚の**AQP3**を変動させる物質・天然物の探索を行った。

##### カンナビジオールによる皮膚**AQP**の発現変動

カンナビジオールは様々な薬理作用が見出されているものの、皮膚機能に対する作用は不明であった。そこで、カンナビジオール塗布による皮膚保湿効果とそのメカニズムについて**AQP**に着目し、検討した。カンナビジオールを塗布したマウスの角質水分量は、コントロール群と比べて有意に増加した。この際、皮膚の炎症反応および明らかな皮膚障害は認められなかった。皮膚におけるロリクリン、フィラグリン、コラーゲン、ヒアルロン酸分解酵素、ヒアルロン酸合成酵素、セラミド分解酵素およびセラミド合成酵素の**mRNA**発現量は、カンナビジオールの塗布による影響は認められなかった。しかしながら、**AQP**ファミリーのうち、**AQP3**のみが**mRNA**レベルおよびタンパク質レベルのいずれにおいても、カンナビジオール塗布群ではコントロール群と比べて有意に高値を示した。以上の結果から、カンナビジオールは皮膚保湿作用を有し、

この作用メカニズムの一つとして、皮膚の水分保持に重要な役割を担っている **AQP3** の発現増加が関与している可能性が考えられた。

#### **限笹エキスによる皮膚 AQP の発現変動**

限笹エキスには、皮膚に対して種々の作用があると信じられているが、その科学的エビデンスは少ない。そこで、限笹エキスの皮膚保湿効果に関する科学的エビデンスの構築を目指し、種々検討を行った。限笹エキス塗布群の皮膚角質水分量は、コントロールマウスと比べて有意に高かった。また、角質水分量増加に關与する皮膚 **AQP3** の発現量は、限笹エキスの塗布により有意に増加した。以上の結果から、限笹エキスは持続的な塗布により **AQP3** を増加させ、保湿効果を発揮することが明らかとなった。

以上の研究成果から、皮膚機能における **AQP** の重要性が見出され、この **AQP** の制御に腸内細菌が関与している可能性が明らかとなった。また、腸内細菌による **AQP** の発現変動は、腸内細菌代謝産物が関与している可能性が見出された。本成果は、これまで不明であった皮膚疾患発症メカニズムとして、腸内細菌の変動が関与している可能性を示唆するものである。今後、新たな皮膚疾患治療薬として、プロバイオティクスやプレバイオティクスなどの腸内環境を制御する物質の応用が期待される。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ikarashi Nobutomo, Mizukami Nanaho, Pei Chenchen, Uchino Ryogo, Fujisawa Izumi, Fukuda Natsuko, Kon Risako, Sakai Hiroyasu, Kamei Junzo	4. 巻 9
2. 論文標題 Role of Cutaneous Aquaporins in the Development of Xeroderma in Type 2 Diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 104 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines9020104	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 Ikarashi Nobutomo, Mizukami Nanaho, Kon Risako, Kaneko Miho, Uchino Ryogo, Fujisawa Izumi, Fukuda Natsuko, Sakai Hiroyasu, Kamei Junzo	4. 巻 20
2. 論文標題 Study of the Mechanism Underlying the Onset of Diabetic Xeroderma Focusing on an Aquaporin-3 in a Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse Model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3782 ~ 3782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20153782	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 Ikarashi Nobutomo, Kaneko Miho, Watanabe Tomofumi, Kon Risako, Yoshino Makana, Yokoyama Takatoshi, Tanaka Riho, Takayama Naoya, Sakai Hiroyasu, Kamei Junzo	4. 巻 10
2. 論文標題 Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor Erlotinib Induces Dry Skin via Decreased in Aquaporin-3 Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 545 ~ 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10040545	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 Ikarashi Nobutomo, Kaneko Miho, Fujisawa Izumi, Fukuda Natsuko, Yoshida Ryotaro, Kon Risako, Sakai Hiroyasu, Sugiyama Kiyoshi, Kamei Junzo	4. 巻 9
2. 論文標題 Wound-Healing and Skin-Moisturizing Effects of Sasa veitchii Extract	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Healthcare	6. 最初と最後の頁 761 ~ 761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/healthcare9060761	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 Ikarashi Nobutomo, Shiseki Marina, Yoshida Ryotaro, Tabata Keito, Kimura Rina, Watanabe Tomofumi, Kon Risako, Sakai Hiroyasu, Kamei Junzo	4. 巻 14
2. 論文標題 Cannabidiol Application Increases Cutaneous Aquaporin-3 and Exerts a Skin Moisturizing Effect	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 879 ~ 879
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph14090879	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9件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 五十嵐信智, 富樫拓己, 川崎 藍, 今理紗子, 酒井寛泰, 亀井淳三
2. 発表標題 腸内細菌と皮膚機能のインターアクションに関する解析~高齢マウスを用いた解析~
3. 学会等名 第24回腸内細菌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 五十嵐信智
2. 発表標題 水代謝異常に対する漢方薬の科学的エビデンス構築を目指して; アクアポリンに着目した白虎加人参湯の水代謝異常改善メカニズムの解明
3. 学会等名 第37回和漢医薬学会学術大会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中李歩, 金子未歩, 高山直也, 横山貴俊, 吉野真花奈, 川崎 藍, 今理紗子, 五十嵐信智, 酒井寛泰, 亀井淳三
2. 発表標題 抗がん剤エルロチニブによる皮膚乾燥メカニズムの解析
3. 学会等名 第140回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐信智
2. 発表標題 糖尿病性乾皮症に対する白虎加人参湯の有用性の検証～アクアポリンに着目した科学的エビデンスの構築～
3. 学会等名 第40回和漢医薬学総合研究所特別セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部智文，金子未歩，今理紗子，石倉愛莉，村上友太，吉野真花奈，横山貴俊，田中李歩，高山直也，酒井寛泰，亀井淳三，五十嵐信智
2. 発表標題 抗がん剤エルロチニブによる皮膚乾燥メカニズムの解析
3. 学会等名 第24回日本地域薬局薬学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 紫関真璃奈，五十嵐信智，吉田涼太郎，田端慶斗，木村理菜，篠崎優衣，宮澤歩華，今理紗子，酒井寛泰，亀井淳三
2. 発表標題 マウスへのカンナビジオール塗布による皮膚保湿効果
3. 学会等名 第38回和漢医薬学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田涼太郎，金子未歩，藤澤泉美，福田夏子，今理紗子，酒井寛泰，杉山 清，亀井淳三，五十嵐信智
2. 発表標題 創傷治癒および皮膚保湿機能に対する隈笹エキスの影響
3. 学会等名 第38回和漢医薬学会学術大会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 五十嵐信智, 吉田涼太郎, 金子未歩, 藤澤泉美, 福田夏子, 今理紗子, 酒井寛泰, 杉山 清, 亀井淳三
2. 発表標題 皮膚におけるアクアポリン3の発現に及ぼす限笹エキスの影響
3. 学会等名 日本生薬学会第67回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡部智文, 金子未歩, 今理紗子, 吉野真花奈, 横山貴俊, 田中李歩, 高山直也, 酒井寛泰, 亀井淳三, 五十嵐信智
2. 発表標題 抗がん剤エルロチニブ投与による皮膚乾燥原因の探索
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>星薬科大学；生体分子薬理学研究室  <a href="https://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/seitaiyakuri/BiomolecularPharmacology/index.html">https://polaris.hoshi.ac.jp/kyoshitsu/seitaiyakuri/BiomolecularPharmacology/index.html</a></p>
--

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
研究分担者	今 理紗子  (KON RISA KO)  (90779943)	星薬科大学・薬学部・特任講師    (32676)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	太田 嗣人  (OTA TSUGUHITO)  (60397213)	旭川医科大学・医学部・教授    (10107)	
研究分担者	岩崎 雄介  (IWASAKI YUSUKE)  (10409360)	星薬科大学・薬学部・准教授    (32676)	

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