	研究代表者	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授 天谷 雅行（あまがい まさゆき） 研究者番号:90212563
	研究課題情報	課題番号：22H04994 キーワード：皮膚バリア、角層、細胞死、pH、皮膚微生物叢 研究期間：2022年度～2026年度

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

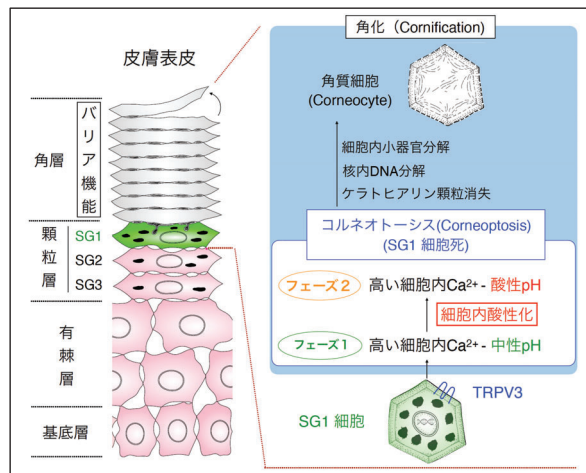
● 研究の全体像

皮膚は私達の体の表面を覆い、私達のデリケートな体を守るバリアとして機能する。皮膚の中でも最外層にある角層は、表皮細胞が分化し、特殊な細胞死を起こし、残された細胞体が積み重なることで構成されている。しかし、角層はその厚み、すなわち積み重なった細胞体数を一定に保っている。本研究では、特殊な表皮細胞の細胞死（コルネオトーシス）のしくみと、角層が一定に保たれる恒常性を維持するしくみを分子レベルで明らかにする。死んだ細胞はエネルギーを消費してシグナル等を伝えることはない。そこでpHに注目し、pHによる制御の観点から、そのしくみを詳しく調べて行く。

具体的には、細胞死を起こして角層になる直前のSG1細胞（顆粒層最上側の角化細胞）に注目し、カルシウムイオン（Ca²⁺）とpHを同時にリアルタイムに観察する技術（ライブイメージング法）を用いてマウスを観察する。この技術により、我々は、SG1細胞の細胞死（コルネオトーシス）では、Ca²⁺濃度が上昇した後、1時間程度の時間（フェーズ1）を経て、高Ca²⁺を保ったまま、pHが中性から弱酸性に酸性化する（フェーズ2）ことが、核、ミトコンドリアなどの炎症を起こす可能性があるオルガネラ（細胞小器官）を消すために必要な過程であることを見出した（図1）。この詳細なしくみを分子レベルで解析するとともに、角層のpHのライブイメージング法を用いて、角層が恒常性を維持するしくみを明らかにしていく。

本研究のステップとして3段階に分け、1）コルネオトーシスの過程を分子レベルで明らかにすること、2）SG1細胞が死んだ後も分化し続け、角層の厚みやバリア機能を一定に保ち続けるしくみ（角層恒常性維持機構）をpH制御の観点から分子レベルで明らかにすること、そして、3）角層pHと皮膚微生物叢の制御することにより、皮膚における炎症が続いてしまうアトピー性皮膚炎に対する新しい治療法を開発することを目標とする（図2）。

図1 SG1細胞死（コルネオトーシス）



この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

1. 表皮細胞特異的な細胞死（コルネオトーシス）の分子メカニズムの解明

SG1細胞のRNAシーケンス解析を行い、SG1細胞に存在するCa²⁺やプロトン（H⁺）を通過させるイオンチャネルを明らかにする。そして、マウスの皮膚にプラスミドを注入するゲノム編集技術（表皮モザイク遺伝子破壊法）を用いて、解析で浮かび上がった候補のイオンチャネルが存在しないSG1細胞を有するマウスを作製する。そのマウスのSG1細胞のカルシウムイオン（Ca²⁺）とpHのライブイメージングを行い、コルネオトーシスにおけるSG1細胞内Ca²⁺濃度上昇（フェーズ1）、酸性化（フェーズ2）に異常が生じるか調べ、SG1細胞内のCa²⁺濃度が上昇するメカニズム、酸性化のメカニズムを明らかにする。

2. 角層恒常性維持機構の解明

アトピー性皮膚炎などの炎症性皮膚疾患では、角層表面のpHが健康皮膚と比べ高い。また、角層に核が残存する「不全角化」が認められることから、コルネオトーシスが正常に作動せず、角層のpH分布に異常が生じている可能性が考えられる。また、角層はリン脂質やセラミドといった脂質を豊富に含み、一部のリン脂質分解酵素やセラミド分解酵素がないマウスでも、角層表面のpHが健康皮膚より高いことが知られている。

そこで、角層に含まれる特徴的な脂質成分（リン脂質・セラミド・脂肪酸など）をノンターゲットリポミクス解析を行うことで明らかにする。そして、解析で浮かび上がった候補の脂質成分を産生することのできないマウスや、アトピー性皮膚炎のモデルマウスを作製し、角層pHのライブイメージングを行う。そして、各マウスで、①角層pHの値、②角層pH分布が正常皮膚と異なるか調べる。また、③角化が正常に起こらない場合に、角層pH分布が異常となるメカニズムを明らかにする。

3. 角層pHと皮膚微生物叢の制御による治療法の開発

角層では、さまざまな皮膚微生物（皮膚微生物叢）が生息している。皮膚微生物叢の偏りが、アトピー性皮膚炎の発症に関わることから、皮膚微生物叢の不均衡（Dysbiosis）は、角層pHの変化に基づく可能性がある。そこで我々は、角層pHと蛍光ラベルした黄色ブドウ球菌の同時イメージング（dualライブイメージング法）をアトピー性皮膚炎のモデルマウスに導入し、皮膚炎が悪化していく過程で、黄色ブドウ球菌が角層のどこまで侵入し、増殖するのか、詳細に調べる。また、黄色ブドウ球菌が増殖していくと、角層pH分布がどのように変化するか調べることで、角層pHと微生物叢の関係を明らかにする。

さらに、アトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚および皮膚微生物叢のRNAシーケンス解析を行う。そして、健康な角層pHの維持に有用な代謝物を産生する皮膚常在菌を同定し、その菌や代謝物を用いた新しいアトピー性皮膚炎の治療法を開発し、その効果をモデルマウスにて調べる。

図2 本研究における3つの研究ステップ

