

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25860958

研究課題名(和文)角層pH調節機構の異常がアトピー性皮膚炎を誘発する

研究課題名(英文)Defective maintenance of pH of stratum corneum can induce atopic dermatitis

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)：研究代表者らは、アトピー性皮膚炎(AD)の病態における角層pH恒常性機能の意義について研究を行った。その結果、AD様皮膚炎を自然発症するflaky tailマウスには、角層pH恒常性機能の障害があり、そのことがAD様皮膚炎の発症、増悪に関与していることを見出した。さらにマウスのADモデルにおける皮膚炎に対して、PAR2阻害剤に角層pH酸性化を併用することによって、治療効果がより高まることを報告した。これらの研究成果は、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唆するものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the homeostasis of stratum corneum (SC) pH on the pathogenesis of atopic dermatitis (AD). In consequence, it was confirmed that defective maintenance of pH of SC is correlated with preferential emergence and exacerbation of AD-like dermatitis in flaky tail mice. Furthermore, we showed combined benefits of a PAR2 inhibitor and SC acidification for murine AD, suggesting the importance of homeostasis of SC pH and maintenance of acidic SC pH on the pathogenesis of AD.

研究分野：アトピー性皮膚炎

キーワード：アトピー性皮膚炎 角層pH

1. 研究開始当初の背景

2006年、アトピー性皮膚炎(AD)の主要な発症因子として、角層蛋白の一つであるフィラグリン(FLG)の遺伝子変異が確認された。しかし、FLGの遺伝子変異がどのような機序でAD発症に至るのか十分に分かっていない。

FLGは表皮角化細胞の分化とともに発現し、最終的に分解され天然保湿因子として働き、角層pHの弱酸性化に寄与していると考えられている。一方で、角層pHが上昇すると、皮膚バリア破壊やTh2型の炎症惹起につながる事が知られており、実際にAD患者の皮膚疹部では角層pHが高い。従って、FLG遺伝子変異は角層pHの上昇を経てAD発症にいたるのではないかとという仮説も挙げたが、FLGに遺伝子変異のあるflaky tailマウス(FTM)や、FLG-KOマウスにおいて、角層pHの上昇は認められなかった。

2. 研究の目的

FTMやFLG-KOマウスの角層pHに変化がないということは、角層pHを補正する何らかの代償機構が定常状態の皮膚で機能しているものと推察された。そこで研究代表者は、FLGの遺伝子変異等を有する状況では、定常状態で既に何らかの角層pHを補正する代償因子が機能しているため、さらなる角層pH上昇刺激が加わった際にその代償機構が破綻し、角層pHが上昇、最終的にAD発症につながるのではないかと仮説を立てた。本仮説の検証および角層pHを利用したADの新規治療開発への発展等を目的として、以下の研究を行った。

3. 研究の方法

(1) FLG遺伝子変異を有し、かつ、AD様皮膚炎を自然発症するflaky tailマウス(FTM)に、皮膚刺激のない角層pH上昇刺激を与え、その後の角層pH値の経時的变化の推移を観察した。さらに連続した角層pH上昇刺激を加えた時の皮膚の反応を解析した。

(2) ハプテンを用いて作成したマウスのADモデルに対して、角層pH酸性化の治療効果の検証を行った。具体的には、皮膚炎を発症したマウスに対して、vehicle(コントロール)外用群、PAR2阻害剤単独外用群、LBA(角層pH酸性化試薬)単独外用群、PAR2+LBA併用群の4群に分けて外用治療を行い、各治療効果を検証した。

(3) その他、FTMにおける自然発症皮膚炎の特徴解析や、培養ヒト表皮角化細胞を用いたADの病態研究実験を行った。

4. 研究成果

(1) FTMと野生型マウス(WT)に、それぞれ刺激のない角層pH上昇刺激を加えたところ、FTMの角層pH回復率は、図1に示すとおり、WTに比べて明らかに劣っていた。

り、WTに比べて明らかに劣っていた。

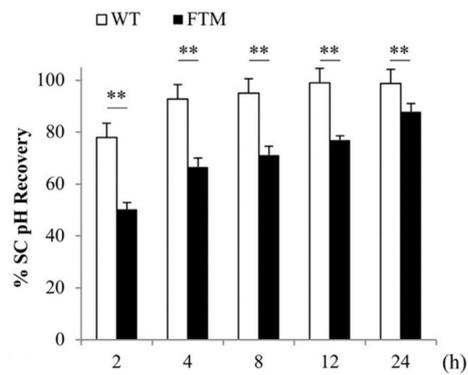


図1. WT、FTMにおける時間毎の角層pH上昇刺激後pH回復率

さらに、WTとFTMに連続した角層pH上昇刺激を加えたところ、FTMでは角層pHの回復が追いつかず角層pHが一貫して上昇し、AD様皮膚炎の発症が認められた。この結果から、FTMには、角層pH恒常性機能の障害があり、そのことが皮膚炎発症、増悪に関与しているものと考えられた。

(2)

ハプテンを連続塗布し、ヘアレスマウスにAD様皮膚炎を発症させ、vehicle、PAR2阻害剤単独、LBA単独、PAR2阻害剤+LBA、をそれぞれ外用したところ、PAR2に角層pH酸性化(LBA)を併用した群で、最も皮膚炎治療効果が高かった(図2)。

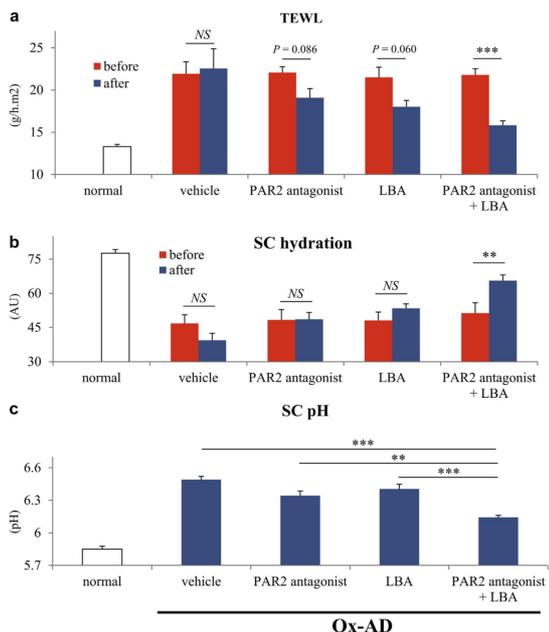


図2. AD様皮膚炎を発症したヘアレスマウスに、各種外用剤で治療を実施した後のTEWL、SC hydration、SC pH

さらに、PAR2阻害剤とLBAの併用治療群では、表皮セリンプロテアーゼ活性および TSLP 発現の抑制効果が認められ、角層 pH 弱酸性維持の重要性を示唆するものと考えられた。

(3)

FTMはAD様皮膚炎を自然発症するが、その皮膚炎に部位特異性および部位による角層 pH 値等の違いがあることを見出した(図3)。

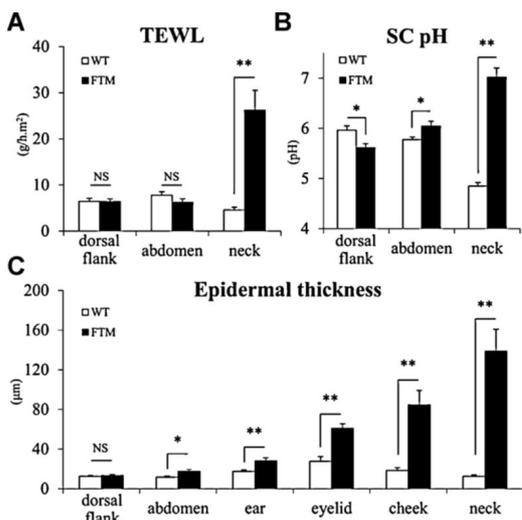


図3. FTMの各部位における皮膚炎の程度

ADの発症因子であるFLG遺伝子をノックダウンした表皮角化細胞では、IL-1、IL-8、IL-18、GM-CSFの産生が増加することを見出した(図4)。

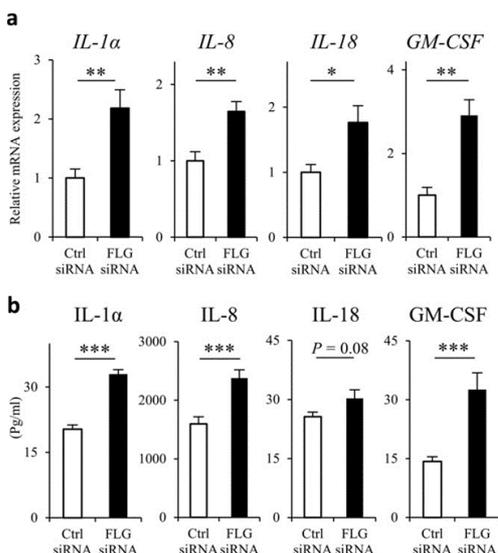


図4. FLG遺伝子をノックダウンした表皮角化細胞における炎症性サイトカインの発現

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

Sakai T, Hatano Y, Matsuda-Hirose H, Zhang W, Takahashi D, Jeong SK, Elias PM, Fujiwara S. Combined Benefits of a PAR2 Inhibitor and Stratum Corneum Acidification for Murine Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol.* 136(2):538-41, 2016

Zhang W, Sakai T, Fujiwara S, Hatano Y. Wy14643, an agonist for PPAR, down-regulates expression of TARC and RANTES in cultured human keratinocytes. *Exp Dermatol.* in press, 2016

Zhang W, Sakai T, Hatano Y, Fujiwara S. Betamethasone Butyrate Propionate Inhibits the Induction of Thymic Stromal Lymphopoietin in Cultured Normal Human Keratinocytes. *Ann Dermatol.* 28(6):772-775, 2016

Sakai T, Hatano Y, Zhang W, Fujiwara S, Nishiyori R. Knockdown of either filaggrin or loricrin increases the productions of interleukin (IL)-1, IL-8, IL-18 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor in stratified human keratinocytes. *J Dermatol Sci.* 80(2):158-60, 2015

Sakai T, Hatano Y, Matsuda-Hirose H, Nishiyori R, Fujiwara S. Atopic dermatitis-like dermatitis emerges unevenly on different sites in flaky tail mice. *J Dermatol Sci.* 78(2):151-3, 2015

Sakai T, Hatano Y, Zhang W, Fujiwara S. Defective maintenance of pH of stratum corneum is correlated with preferential emergence and exacerbation of atopic-dermatitis-like dermatitis in flaky-tail mice. *J Dermatol Sci.* 74(3):222-8, 2014

[学会発表](計 4 件)

Sakai T, Nishiyori R, Hatano Y, Zhang W, Fujiwara S. Knockdown of either filaggrin or loricrin increases the productions of IL-1, IL-8, IL-18 and GM-CSF in stratified human keratinocytes. The 40th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, 11-13 December 2015, Okayama, Japan.

Sakai T, Hatano Y, Matsuda-Hirose H, Zhang W, Takahashi D, Jeong SK, Elias PM, Fujiwara S. Combined benefits of a

protease-activated receptor-2 inhibitor and stratum corneum acidification for murine atopic dermatitis. The 45th annual ESDR meeting, 9-12 September 2015, Rotterdam, The Netherlands.

Sakai T, Hatano Y, Hirose H, Zhang W, Fujiwara S. Spontaneous atopic-dermatitis-like dermatitis emerges on face and neck but not whole body in flaky-tail mice. 3rd Eastern Asia Dermatology Congress, 24-26 September 2014, Jeju, Korea.

Sakai T, Hatano Y, Fujiwara S. Increased sensitivity to stratum corneum neutralization favors the development of dermatitis in flaky-tail mice. International Investigative Dermatology, 8-11 May 2013, Edinburgh, United Kingdom.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒井 貴史 (SAKAI TAKASHI)
大分大学・医学部皮膚科学講座・助教
研究者番号：20624290

(2) 研究分担者

()
研究者番号：

(3) 連携研究者

()
研究者番号：

(4) 研究協力者

波多野 豊 (HATANO YUTAKA)
藤原 作平 (FUJIWARA SAKUHEI)
広瀬 晴奈 (HIROSE HARUNA)
張 偉 (ZHANG WEI)
Se Kyoo Jeong
Peter M. Elias