

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 30 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860880

研究課題名(和文) ラマン分光装置を用いたバリア機能障害を伴う皮膚疾患における角層天然保湿因子の解析

研究課題名(英文) Analysis of the natural moisturizing factor in stratum corneum for skin barrier dysfunction using confocal Raman spectroscopy

研究代表者

谷崎 英昭 (Tanizaki, Hideaki)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：90586653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎患者群では、健常人と比較して、角層全層にわたってNMFの有意な低下がみられ、TEWLやpHとの相関も確認された。また、アトピー性皮膚炎治療として、長期間ステロイド外用薬を使用し続けた手指では、非使用群と比して有意にNMFが低下することが確認された。さらに、入浴時の擦過行動によってNMFが低下し、入浴後より早期に保湿剤を塗布することで、より早期にNMFが改善することも判明した。今後も引き続き症例を累積することで難治性皮膚疾患の病態解析につながると考えている。

研究成果の概要(英文)：In atopic dermatitis patients, compared to healthy controls, NMFs were significantly reduced over the stratum corneum all layers and were also confirmed the correlation between TEWL and pH. Further, NMFs and skin thickness were significantly reduced by a finger after long term topical steroid use as compared to the non-use group. In addition, NMFs are reduced by scratching behavior at the time of bathing, topical treatment after bathing immediately was more early improved the NMFs. We continue to integrate the case and want to analyze the pathology of intractable skin disease.

研究分野：皮膚アレルギー

キーワード：皮膚バリア機能 天然保湿因子 アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

表皮は、厚さが 0.2 mm 程度の膜であり、角化プロセスによって細胞分裂と分化を日々繰り返している。その中でも角質層は外界と体内との境界部に位置して、皮脂膜と天然保湿因子 (NMF) 細胞間脂質をバランスよく保持することによって、「バリア機能」と「水分保持機能」という皮膚の機能における中心的な役割を担っている。

アトピー性皮膚炎は、遺伝的要因として乾燥肌を有し環境中の多様な因子が絡んで発症するが、フィラグリン遺伝子変異の有無がアトピー性皮膚炎の発症因子の中で最も頻度の高い因子であると近年報告されている。

研究代表者は、自身が重度のアトピー性皮膚炎患者であり自身の皮膚のケアを含めた日常診療を行うなかで、アトピー性皮膚炎が人種を超えて多様な皮膚症状を呈することや喘息をはじめとするアレルギー症状の合併の有無にフィラグリン蛋白発現の相違のみが関与するのかどうか疑問を持ち、フィラグリン蛋白の分解産物である NMF の総量や分布が「バリア機能・水分保持機能」とどのような関連をもつのかどうか、また、アトピー性皮膚炎患者の治療には局所外用療法が第 1 選択となるが、ステロイド外用剤の長期使用は皮膚菲薄化などの副症状も呈することから外用剤そのものが NMF に影響を与えるかどうか常に興味を抱いていた。

2. 研究の目的

本研究は、皮膚の重要な機能である「バリア機能」と「水分保持機能」において中心的な役割を担っている保湿成分 (天然保湿因子: Natural Moisturizing Factor (NMF)) に注目し、共焦点ラマン分光装置を用いて、角質層における NMF 含有量と皮膚表面から内部にかけての分布について皮膚における水分・アミノ酸・脂質など各成分の測定は、光工学による計測技術の進歩によって著しく発展している。従来、テープストリッピングなどによる皮膚剥離を行った後に蛋白量などを測定していたのに対し、共焦点ラマン分光装置の出現によって角質内の深さ分布や薬剤の皮膚への浸透性を非侵襲かつ無標識に高感度で詳細な解析が可能となった。特にヒト検体においては、症状に苦しんでいる皮膚の状態そのままを短時間で測定できることに加え、皮膚生検や皮膚剥離などの検体採取時の影響をほぼ受けることなく評価出来る非侵襲かつ無標識に詳細な解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

幼児期よりアトピー性皮膚炎に罹患し、ステロイド外用加療を継続している中等度以上のアトピー性皮膚炎患者 10 名、非アレルギー疾患被検者 10 名を対象とし、前腕屈側肘窩から 10 cm 末梢部を中心に各条件下に 5 回の共焦点ラマン分光装置による測定の間

均をとり、各所での天然保湿因子含有量を測定した。

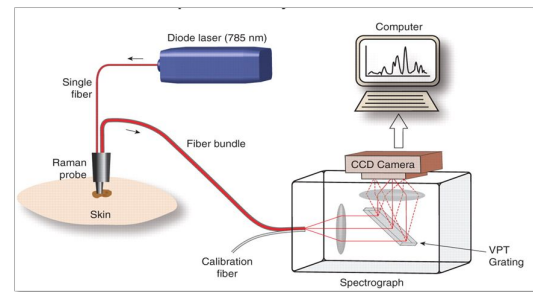


図 1: Raman 分光光度計の解析イメージをしめす。レーザー光照射によって生じたラマン散乱光を解析することにより、角層内含有物質を同定し含有率などを対ケラチン比率による値として得る。

4. 研究成果

アトピー性皮膚炎患者の手掌・前腕・顔面など特徴的な皮疹を呈する部位を中心に、健康人を疾患比較対照群として、NMF・経皮水分蒸散量 (TEWL)・pH を測定した結果、アトピー性皮膚炎患者群では、角質表層から顆粒層直上までの全層にわたって有意に NMF の分布の低下がみられ、TEWL や pH との相関も確認された。また、角層を含めた皮膚表面の粗造が強いところでは測定差異が大きいところを認め、アトピー性皮膚炎患者では、天然保湿因子が低下しているのみならず、角層内の分布も健康人コントロールと比して一定ではないことが示唆された。このことは、各患者において、搔破しやすい場所に加えて炎症を繰り返しやすい場所が一定頻度生じやすい一つの誘因になっている可能性があると考えられた。

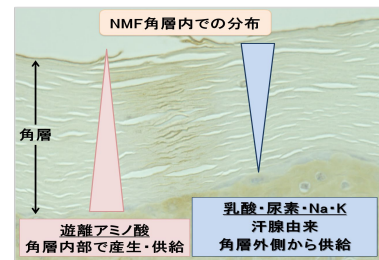
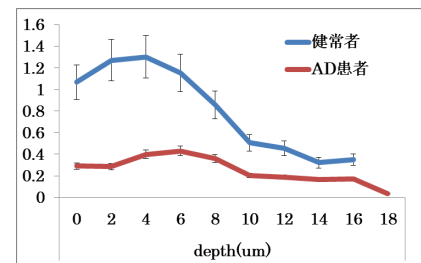


図 2A:



2B:

(図 2A: NMF の角層内分布模式図。角層内部由来の NMF (おもにアミノ酸) と汗腺由来の NMF (乳酸・尿素・Na・K) の分布を示す。

2B：アトピー性皮膚炎患者では健常者に比し  
て角層表層からの NMF 量が低下している)

また、アトピー性皮膚炎治療に用いられるステロイド外用薬による副反応として、皮膚の菲薄化が生じ、それに伴って NMF の低下も生じていることが予想されていたが、長期間ステロイド外用薬を使用し続けた手指において、非使用群と比して有意に NMF が低下することが確認された。さらに日常生活における入浴時の擦過行動によって NMF が低下し、入浴後より早期に保湿剤を塗布することで、より早期に NMF が改善されることも解析した。今後も者臨床検体の測定を引き続き行いデータを蓄積することによって、難治性皮膚疾患の病態解析、新規治療薬の治療戦略の起点となりうる成果を得られたと考えている。

図 3A TEWL

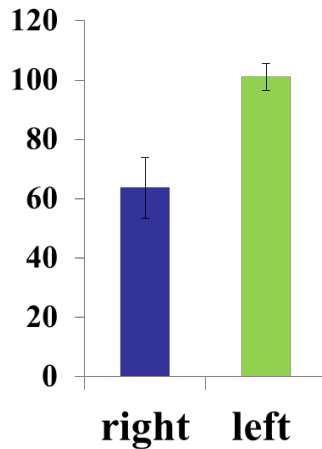


図 3B pH

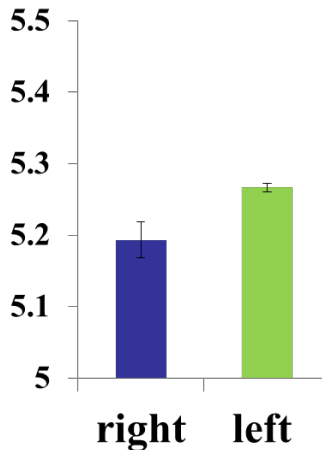
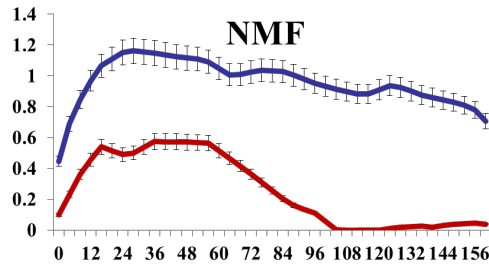


図 3C Total NMF



(図 3A, B, C：長期間ステロイド外用薬を使用した右指では、左指と比較して TEWL、pH、total NMF の有意な低下を認めた。)

## 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 1 件)

Tanizaki H, Nakashima C, Shimizuhira C, Miyachi Y, Kabashima K. Performance comparison of a novel intradermal injection system with the Mantoux technique. J Dermatol Sci. 2015; 79(3): 310-3. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.06.010.

〔学会発表〕(計 1 件)

谷崎英昭、Pawainee Rerknimitr、中溝聡、大塚篤司、椋島健治 「アトピー性皮膚炎における発汗障害・発汗抑制機序における検討」第 2 回汗と皮膚疾患の研究会 2015 年 8 月 8 日 東京

〔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

谷崎英昭(TANIZAKI, Hideaki)

大阪医科大学 医学部 講師

研究者番号： 90586653