

共焦点ラマン分光装置を用いた非侵襲的な皮膚バリア機能の解析

研究分担者 椛島 健治 京都大学 医学研究科 皮膚科学 准教授
研究協力者 中島沙恵子 京都大学 医学研究科 皮膚科学 研究員

研究要旨 アトピー性皮膚炎を引き起こす遺伝的素因の一つであるフィラグリンは、角層内でケラチン繊維から遊離し、アミノ酸にまで分解され、天然保湿因子（Natural Moisturising Factor：NMF）として角層内に放出される。NMFは皮膚の水分保持のみならず、皮膚 pH の維持、感染防御など皮膚バリア機能の維持に重要な役割を果たす。そこで本研究では、非侵襲的に NMF を測定出来る共焦点ラマン分光装置を用い、アトピー性皮膚炎患者の疾患重症度や治療と NMF を中心とする皮膚バリア機能の関連について多変量的な視点での評価を行った。共焦点ラマン分光装置を用いて、非侵襲的に同一アトピー性皮膚炎患者のステロイド長期外用部位と非外用部位の皮膚における NMF 含有量を測定した。ステロイド長期外用により NMF は低下し、皮膚バリア機能が低下していることが明らかとなった。共焦点ラマン分光装置を用いた NMF を中心とするアトピー性皮膚炎の皮膚病態の解析により、皮膚バリア機能に焦点を当てた新規治療法の探索が可能となることが期待される。

A. 研究目的

哺乳類皮膚表皮の顆粒層特異的に発現するフィラグリンのヒトにおける欠失変異がアトピー性皮膚炎を引き起こす遺伝子素因の一つとなっていることが、2006年に McLeanらにより報告された。フィラグリンは角層内でケラチン繊維から遊離し、アミノ酸にまで分解され、天然保湿因子（Natural Moisturising Factor：NMF）として角層間に放出される。NMFは皮膚の水分保持のみならず、皮膚 pH の維持、感染防御、角層内での酵素反応の制御を行い、皮膚バリア機能の維持に重要な役割を果たす。フィラグリン遺伝子変異の有無にかかわらず、多くのアトピー性皮膚炎患者の NMF は健常人と比較して低下していることが報告されており、NMF の低下がアトピー性皮膚炎のバリア機能低下の一因であることが明らかとなっている。NMF の測定はこれまで、テープストリッピングによる表皮剥離や皮膚生検といった侵襲を伴う方法でしか測定することができず、同一個体・同一部位での評価や経時的な評価は困難であった。そこで本研究では、非侵襲的に NMF を測定出来る共焦点ラマン分光装置を用い、アトピー性皮膚炎患者の疾患重症度

や治療と NMF を中心とする皮膚バリア機能の関連について多変量的な視点での評価を目的とする。

B. 方法

アトピー性皮膚炎の標準的治療の一つであるステロイド局所外用療法は、皮膚に浸潤してきた炎症細胞に対して免疫抑制作用を発揮することにより治療効果を発揮する。一方で、ステロイドの長期的な外用により皮膚萎縮・菲薄化・毛細血管拡張といった副作用を生じることが知られているが、ステロイドの長期外用が皮膚バリア機能に及ぼす影響についての詳細は不明であった。そこで今回、ステロイド長期使用歴のあるアトピー性皮膚炎患者の皮膚と、同一患者でステロイド長期使用していない皮膚の NMF を共焦点ラマン分光装置を用いて測定し、ステロイド長期使用の皮膚バリア機能に及ぼす影響について検討を行った。

具体的には、River Diagnosis 社製共焦点ラマン分光装置を用いて、アトピー性皮膚炎患者のステロイド軟膏長期外用部位（右示指先端指腹）および非外用部位の皮膚（左示指先端指腹）の

NMF を解析し、ステロイド長期外用に伴う皮膚 NMF の変化について検討を行った。同時に、皮膚 pH、経皮的水分蒸散量 (Trans-epidermal water loss: TEWL) およびセラミド含有量についても評価を行った。

C. 結果

ステロイド長期外用後の皮膚における NMF は長期外用しなかった皮膚と比較して著明に低下していた。NMF の主要な構成成分であるピロリドンカルボン酸 (PCA) も同様の傾向を認めた。一方で、角質間脂質の一つとして知られるセラミドについてはステロイドの長期外用による影響を認めなかった。経皮的水分蒸散量および pH はステロイド長期外用により共に低下した。

D. 考察

これまで侵襲的な方法でしか測定出来なかった皮膚 NMF 含有量を非侵襲的に測定し、ステロイド長期外用の皮膚バリア機能に及ぼす影響について検討を行った。ステロイド長期外用により NMF は低下する一方、細胞間脂質の一つであるセラミドは低下しなかった。

E. 結論

共焦点ラマン分光装置を用いて、非侵襲的に皮膚における NMF 含有量を測定した。ステロイド長期外用により NMF は低下し、皮膚バリア機能が低下していることが明らかとなった。共焦点ラマン分光装置を用いた NMF を中心とするアトピー性皮膚炎の皮膚病態の解析により、皮膚バリア機能に焦点を当てた新規治療法の探索が可能となることが期待される。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Honda T, Kabashima K. Prostanoids in allergy. *Allergol Int.* 2015 Jan;64(1):11-16.
2. Nakamizo S, Egawa G, Honda T, Nakajima S, Belkaid Y, Kabashima K. Commensal bacteria and cutaneous immunity. *Semin Immunopathol.* 2015 Jan;37(1):73-80.
3. Dainichi T, Hanakawa S, Kabashima K. Classification of inflammatory skin diseases: a proposal based on the disorders

of the three-layered defense systems, barrier, innate immunity and acquired immunity. *J Dermatol Sci.* 2014 Nov;76(2):81-9.

4. Nomura T, Kabashima K, Miyachi Y. The panoply of $\alpha\beta$ T cells in the skin. *J Dermatol Sci.* 2014 Oct;76(1):3-9.
5. Nakashima C, Otsuka A, Kitoh A, Honda T, Egawa G, Nakajima S, Nakamizo S, Arita M, Kubo M, Miyachi Y, Kabashima K. Basophils regulate the recruitment of eosinophils in a murine model of irritant contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jul;134(1):100-7.
6. Nakajima S, Kitoh A, Egawa G, Natsuaki Y, Nakamizo S, Moniaga CS, Otsuka A, Honda T, Hanakawa S, Amano W, Iwakura Y, Nakae S, Kubo M, Miyachi Y, Kabashima K. IL-17A as an inducer for Th2 immune responses in murine atopic dermatitis models. *J Invest Dermatol.* 2014 Aug;134(8):2122-30.
7. Otsuka A, Doi H, Egawa G, Maekawa A, Fujita T, Nakamizo S, Nakashima C, Nakajima S, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K. Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jan;133(1):139-46.e1-10.

2. 学会発表

1. H. Tanizaki, Kenji Kabashima. Effect of topical steroid on the stratum corneum compositions by using confocal Raman microscopy. 11th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology, June 11-14, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
該当無し
2. 実用新案登録
該当無し
3. その他
該当無し