

研究課題（テーマ）		プロテオミクス技術による表皮バリア機能異常の高感度検出法の確立と難治性皮膚疾患の早期発見法確立への応用	
研究者	所属学科等	職	氏 名
代表者	工学部医薬品工学科	教授	長井 良憲
分担者	富山県薬事総合研究開発センター	主任研究員	渡邊 康春
研究結果の概要			
【研究目的】 表皮の最表面は角層という約 0.02 mm の薄い膜であり、角化細胞の層（角層細胞）とその間を満たしているセラミド等の脂質から構成され、バリア機能に重要な役割を果たしている。角層の異常は様々な難治性皮膚疾患の原因となる。例えばアトピー性皮膚炎は角層バリア機能の障害であり、乾癬は角層細胞の異常増殖により発症する。我々は、富山県薬事総合研究開発センター（以下、薬総研）に設置の質量分析器を用いて、組織や細胞中のタンパク質の量的変動を網羅的に且つ高感度に検出する手法を確立した。本研究では、質量分析器を用いてテープストリッピング法により採取した角層のタンパク質を高感度に検出する方法を確立し、遺伝的背景等が異なる複数系統のマウスを用いて、バリア機能の破綻に関わる皮膚難病の早期発見法の確立を目指した。 【研究結果】 マウスの背部を剃毛・除毛し、イミキモド（Imiquimod:IMQ）クリーム（ベセルナクリーム：持田製薬）を 7 日間連続塗布することで、乾癬モデルマウスを作製した。その際に、乾癬誘導に頻繁に用いられる A 系統マウスと類似の B 系統マウスの 2 系統を用いた。A 系統マウスは Th17 分化に重要な役割を果たす腸内細菌（セグメント細菌）が多いため、B 系統マウスよりも乾癬を誘導しやすいことが予想された。また、対照として小腸に Th17 及びセグメント細菌が豊富に存在する C 系統マウスも用いた。これら 3 系統マウスに乾癬を誘導した結果、無処置群と比較し、皮膚の症状（紅斑や鱗屑）に系統間で差が認められた。これらの皮膚よりテープストリッピングにより角層タンパク質を抽出し、現在、質量分析器により解析中である。また、皮膚病態についてリアルタイム PCR 法及び病理組織学的に解析予定である。 以上から、マウスの遺伝的背景が乾癬の病態に影響を与えることが示唆された。また、系統間の乾癬病態の違いに Th17 及びセグメント細菌の存在量が影響を与えることも示唆された。今後のプロテオーム解析結果から、乾癬病態や Th17 及びセグメント細菌と関連のあるタンパク質の同定が進むことが期待できる。			
今後の展開			
現在、テープストリッピング法により抽出した角層タンパク質の解析中であり、乾癬発症早期に変動するタンパク質の同定が期待できる。また、マウス系統間での乾癬病態の違いを説明する角層タンパク質の同定も期待できる。さらに今後は、アトピー性皮膚炎モデルマウスを作製し、本技術を用いて乾癬病態とアトピー性皮膚炎病態との違いを角層タンパク質の発現変動を基に解析する予定である。			