

日本医療研究開発機構 官民による若手研究者発掘支援事業  
事後評価報告書

公開

I 基本情報

補助事業課題名: 皮脂中 RNA の発現パターン解析によるアトピー性皮膚炎診断のための医療機器の研究開発

(プログラム名) Development of a programmed medical device for the diagnosis of atopic dermatitis by analyzing the expression pattern of RNA in sebum

実施期間: 令和 4 年 6 月 13 日から令和 6 年 3 月 31 日

補助事業担当者 氏名: 山本 貴和子

(英 語) kiwako Yamamoto-hanada

補助事業担当者 所属機関・部署・役職: アレルギーセンター・行動機能評価支援室

(日本語) 国立成育医療研究センター・アレルギーセンター行動機能評価支援室・室長

(英 語) National Center for Child Health and Development Chief, Allergy Center

II 補助事業の概要

研究開発の背景

アトピー性皮膚炎 (AD) は寛解増悪を繰り返すかゆみを伴う慢性湿疹をその特徴としており、本邦における生後 2 歳までの累積罹患率は 7% と言われている。アレルギー疾患発症には、環境中に存在する各種抗原の皮膚経由感作が寄与することが複数の研究にて明らかとなった。そのため、乳幼児期早期に皮膚からのアレルゲン感作を予防する事が、近年増加傾向にあるアレルギー疾患の罹患率を減少させるために極めて重要である。

実際、乳児期には約 25%、2 歳児には約 15% とアトピー性皮膚炎の罹患率と比較して数倍の乳幼児が搔痒感を伴う湿疹を有している。アトピー性皮膚炎の診断は「治療により増悪と寛解を繰り返す湿疹」といった臨床症状に基づき診断されているため医師により診断精度のばらつきが大きく、皮膚炎の治療は遅れがちである。すなわち、適切な皮膚治療介入が遅れによってアレルゲンに感作し、食物アレルギー等の皮膚炎以外のアレルギー性疾患が発症してしまうことが現在アレルギー性疾患発症予防の大きな問題である。そのため、臨床症状のみならず客観的バイオマーカーによって乳児期早期にアトピー性皮膚炎診断をどこでも簡便に診断できる医療機器の開発が長年求められてきた。

近年、皮膚から得られる Ribonucleic acid(RNA)には様々なアトピー性皮膚炎に関連するバリア機能や炎症の病態に関する情報が含まれ、アトピー性皮膚炎の診断や重要度判定に有用であることが明らかになってきた。皮膚中 RNA 採取方法としは、10 - 20 回皮膚をテープストリッピングして角層中 RNA を採取・解析する方法が現在は一般的に用いられている。しかし、成人と比較して皮膚が薄い乳児から 10 - 20 枚の角層を採取することは侵襲的であり、乳児に対して負担をかける方法である。

共同研究を行っている花王株式会社は、市販のあぶらとりフィルム一枚により非侵襲的に採取した皮脂を用い、皮脂中に含まれる RNA・タンパク質を網羅的に解析する世界初の技術を開発した。我々の実施した生後 1 ヶ月児を対象としたパイロット研究においては、アトピー性皮膚炎診断児は既報のテープストリッピング法によるアトピー性皮膚炎と同様の皮脂 RNA 発現パターンを示し、健常児とアトピー性皮膚炎は発現パターンが大きく異なることが明らかとなった。すなわち、本技術を乳児期早期に実施して皮脂 RNA にアトピー性皮膚炎と同様の変化を発見することができれば、ステロイド軟膏等による早期治療介入によってアトピー性皮膚炎の罹病期間を短縮させアトピー性皮膚炎の重症化予防できるのみならず、引き続く食物アレルギー等の他のアレルギー疾患発症予防が可能になると期待される。

## 研究成果

### 市場調査・コンセプト

皮膚科医及び小児科医（アレルギー専門医、アレルギー非専門医を含む）に対してニーズの確認のため訂正調査を実施した。多くの医師から、非侵襲的なアトピー性皮膚炎の診断ができる技術のニーズを確認した。市場調査結果から、市場の理解を行い、乳幼児アトピー性皮膚炎診断のコンセプト作成を行った。

### ギャップ分析

既存品や類似品とのギャップ分析を行い、本開発品について整理を行った。

### 皮脂 RNA によるアトピー性皮膚炎の診断プログラムに用いる臨床データの収集

サンプル採取および皮脂 RNA 発現プロファイル取得・統計的データ解析のため臨床試験を実施した。

国立成育医療研究センターで出生した児 100 名を対象とし、生後 1、2、6 カ月に臨床所見とサンプル収集を行った。既にサンプル収集および皮脂 RNA の抽出および次世代シーケンサによる網羅的遺伝子発現解析まで完了した（成育倫理委員会承認番号 2019-104）。新たに 15 歳までのサンプル収集を実施した。

## 成果発表

### 生後 1 カ月で発症する AD 乳児の皮脂 RNA で AD の特徴が明らかにした

国立成育医療研究センターで 2020 年に出生した乳児に、生後 1 カ月から 6 カ月まで経時的に医師による皮膚観察と顔からの皮脂採取を行い、皮脂 RNA 解析ができた乳児 90 名を対象として研究を実した。今回は、生後 1 カ月時点で AD を発症していた乳児（以下、AD 乳児）は 11 名、生後 6 カ月まで肌トラブルのない健常児 6 名で、両者について 5,457 種の RNA 発現量を比較したところ、AD 乳児では免疫応答（炎症）に関わる分子の発現が高く、皮膚バリアに関わる分子の発現が低いという、AD に特徴的な RNA 变化が確認された。これは、生後 6 カ月から 5 歳までの健常児と AD の子どもを対象とした皮脂 RNA 解析と同様の結果を示し、生後 1 カ月時でも結果の再現性が確認できました。本技術を用いることで、低月齢の乳児においても負担をかけずに AD の状態を客観的に知ることができることが明らかとなった。

生後1ヶ月の乳児に頻発するざ瘡(ニキビ)と生後2ヶ月のADの皮脂RNAプロファイル特徴の検討  
生まれて間もない乳児にはさまざまな皮膚疾患が多く見られる。中でも、活発な皮脂分泌による新生児ざ瘡は多発する傾向にあり、今回の研究においても健常児を除いた湿疹を有する乳児の45% (84名中38名)が生後1ヶ月時点でざ瘡を発症していた。そこで、健常児、AD乳児、ざ瘡乳児、その他湿疹を有する乳児それぞれの皮脂RNA発現情報を用いた主成分分析を行い、皮脂RNAプロファイルの特徴を確認した。  
その結果、生後1ヶ月ざ瘡乳児は、健常児に近い皮脂RNAプロファイルを有する場合と、AD患児に近いRNAプロファイルを有する場合と、どちらも存在することが明らかとなった。そこで生後2ヶ月の肌状態を追跡した結果、生後2ヶ月でADと診断されたざ瘡乳児は、ADを発症しなかった乳児に比べ、生後1ヶ月時点ですでに重要度の高い第一主成分上でAD乳児に近い皮脂RNAプロファイルを有していたことがわかった。

皮脂RNAにより、生後1ヶ月時点のざ瘡乳児からAD発症の兆候を検出

ADに進展する、もしくは進展しないざ瘡乳児の間にどのような特徴の違いがあるのかを明らかにするために、生後2ヶ月でのざ瘡乳児の生後1ヶ月時の皮脂RNAプロファイルの特徴を解析した。ADの発症にはバリア機能の低下が深く関与している。そこで皮膚バリア機能に関連する遺伝子群(角化・脂質)を選択し、GSVA (Gene Set Variation Analysis)解析を行った。その結果、生後2ヶ月でADと診断されたざ瘡乳児は、そうでない乳と比較して、生後1ヶ月時点の皮膚バリア機能関連分子群の発現レベルが有意に低く、ADと類似するパターンを示していた。この結果より、ADに進展するざ瘡(ニキビ)については、ADの診断がなされる前から皮膚バリア機能に関連する分子群の発現が減少していることが示された。皮脂RNA情報を用いることで、AD発症の予兆を検出できる可能性があると考えられた。

これらの研究成果はプレスリリースおよび記者会見を行い、多くの報道機関から報道された。また、英語や中国語でのリリースを行い、海外の記事でも紹介され、日本のみならず海外からも注目が高いことが示された。

## 意義

今回の研究で、食物アレルギーなどのアレルギーマーチの発症リスクが最も高いとされている生後1ヶ月の早期発症型ADに特徴的なRNA発現変化を明らかにした。さらに、乳児期に多発する新生児ざ瘡からADに進展する可能性が高い乳児を早期に発見できる可能性も示した。皮脂RNAモニタリング技術は、肌の機能が未熟な低月齢の乳幼児において痛みや侵襲を伴わず身体に負担をかけることなく、早期発症型AD予備群を見つける有益な技術になると見える。乳幼児アレルギーゼロ社会の実現に向け、AD早期発見につながる診断技術の開発を進めていく。

Recent advancements have revealed that Ribonucleic acid (RNA) extracted from the skin contains valuable information related to AD's underlying mechanisms. However, conventional methods of skin RNA extraction are invasive, particularly for infants.

Kao Corporation has pioneered a revolutionary technology that non-invasively collects sebum using oil-absorbing film and analyzes its RNA and protein content. In a preliminary study, infants diagnosed with AD exhibited similar sebum RNA patterns to those diagnosed using conventional methods, suggesting the potential of this technology for early AD diagnosis and allergic disease prevention.

The study conducted surveys to confirm the demand for non-invasive AD diagnosis techniques among dermatologists and pediatricians. Market research was carried out to develop a concept for diagnosing infantile AD.

An analysis was performed to identify gaps with existing products and guide further development.

Clinical trials involved collecting samples from infants at the National Center for Child Health and Development, followed by sebum RNA extraction and gene expression analysis.

The study revealed distinctive RNA changes associated with AD in infants as young as one month old. Infants with AD exhibited higher expression of immune response molecules and lower expression of skin barrier molecules compared to healthy infants.

Sebum RNA profiles of infants with acne at one month of age displayed similarities to both healthy infants and those with AD. Infants with acne who later developed AD exhibited sebum RNA profiles similar to those diagnosed with AD.

Differences in sebum RNA profiles at one month of age were identified between infants with acne who later developed AD and those who did not. Infants who developed AD showed lower expression levels of skin barrier-related molecules, indicating the potential for early AD detection using sebum RNA.

The study's findings are significant as they identify specific RNA expression changes associated with early-onset AD, aiding in the early detection of high-risk infants. Sebum RNA monitoring technology provides a non-invasive means of identifying infants at risk of early-onset AD. Continued development of diagnostic technologies aims to achieve a society with zero infantile allergies.