

犬と猫の皮膚バリア機能研究と動物看護への応用

百 田 豊

日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科 獣医保健看護学臨床部門・准教授

日獣生大研報 67, 1-8, 2018.

はじめに

筆者は、岩手大学農学部獣医学科を辞して2008年に日本獣医生命科学大学獣医学部獣医保健看護学科に着任した。本学科は獣医学部のある大学では初めて新設され動物看護師の教育を趣旨とするため、研究テーマを教育内容に沿って変更する契機となった。また、獣医皮膚科診療の専門診療に専念できる環境に移ったことから、臨床獣医師および動物看護師に資する成果を挙げることを目標に新規の治療法を考案したことを紹介させていただきたい。

研究の背景から：新規治療法の開発の経緯

犬アトピー性皮膚炎の管理に対する失宜が慢性的に続いた結果、重度のマラセチア皮膚炎を患う看護動物*が少なくない。その結果、広範囲に皮膚の苔癬化が進んだため、掻痒管理が困難な難治性の皮膚炎が生じる。そのような全身が象皮様な皮膚疾患を犬と猫の皮膚病/第2版で「慢性増殖性皮膚炎」を命名されている¹⁾。筆者は、このような皮膚炎を「慢性増殖性皮膚炎」と呼称することとした。

*看護動物：看護を受ける動物を指すが、獣医師が表現すると「患者」と呼ぶのであろう。



fig 1. 慢性増殖性皮膚炎を患ったゴールデン・レトリバーの治療風景

付属動物医療センターで診察を開始した当初、岩手大学での皮膚病の動物との違いに困惑した。ひとつは、薬剤耐性ブドウ球菌による膿皮症や薬剤耐性マラセチアによるマ

ラセチア皮膚炎の存在であった。さらに、犬アトピー性皮膚炎やそれに加えて続発性皮膚炎により憎悪して難治性の掻痒を呈した皮膚病の動物が非常に多いことであった。気候と飼育環境、獣医療の普及の差が大きな地域差が生じた背景と推測している。

慢性増殖性皮膚炎の新規治療を開発した経緯

上述の薬剤耐性ブドウ球菌とマラセチア皮膚炎の再発を繰り返す慢性増殖性皮膚炎を患ったゴールデン・レトリバーの治療に3年間苦慮した経験から、抗菌薬、抗真菌薬を全身投与することの限界を悟り、さらにプレドニゾロンといったステロイド剤の全身投与に抗掻痒治療が反応しないケースがあることを身をもって体験した。これらの治療に耐性をもつ病態に対する解決方法は外用塗布療法以外にないことはすぐに気が付いた。しかし、外用療法が普及しない理由の一つに、動物は身体を舐めるためステロイドの過剰摂取の懸念が大きな壁となっていた。

動物看護師の専門的業務を、獣医皮膚科学の分野におけるアイデアを筆者は探していた。当時同僚としてともに働いていた松原孝子教員がシャンプーカウンセリングの発想を実習の中で取り入れていたことから、シャンプーをテーマにしようと決めていた。シャンプーカウンセリングとは、飼主にシャンプーの方法を実地で指導しながら、飼主にシャンプーを行う障害となる情報を収集し看護介入することである。ちなみに、松原孝子氏は日本で初めて「看護過程」の概念を動物医療に導入した有為な人物であり、非常に珍しいことにヒトの看護教員出身の貴重な教員であった。

筆者は大学院に在籍していた当時、千葉大学大学院 医学研究院へ国内留学をしており、皮膚科医局にて研究に勤しむ傍ら、講義やポリクリ時に医学部の授業を聴講する貴重な機会を得た。その折に、医局にて知己を得た助手の医師から「年少のアトピー性皮膚炎の男児が入院している」ことを耳にしたため不思議に感じていた。研究・実験と同じ実験室を使用していた関係で、その意図を直接に拝聴することができた。年少の場合、毎日の外用を行う作業を

MMD療法の手順

手順①

フランカルボン酸モメタゾンを、
予め剃毛した患部に塗布する



手順②

患部に塗布した状態で
3時間静置する。
カラーの装着により
外用剤を舐めさせない。



手順③

外用剤をシャンプーで洗い落とす。
抗真菌剤含有シャンプーを利用。



手順④

タオルドライ後、ブローでドライ。



手順⑤

患部に保湿剤を塗布する。
セラミド含有軟膏を推奨。



面倒に感じ継続できないため、指示した治療を完遂することができない。そのため、治療習慣の確立と、治療による疾患の管理を体験させるため、1か月入院させるという「教育入院」という概念の説明であった。閃きとして、皮膚病の看護動物の治療を行う「飼い主」にも同じことが当て嵌まるだろうと動物看護介入に繋がる発想を暖めていた。

ステロイドパルス療法の具体的な手順に関する考察

教育としての「入院治療」のアイデアと動物看護師の専門技術としての「シャンプー浴」の実施、「ステロイド剤による外用塗布療法を安全、確実にを行う」ことの3つのアイデアを暖めていたが、同時に達成できる発想を2011年に思いついたのであった。この3要素を一つの治療に組み込んだのが、「MMD療法」と命名したステロイド外用パルス療法である。Fig.2 (MMD療法の手順)に示したように、ベリーストロングのステロイド外用剤を外用し、3時間後に洗い流す治療を週1回の2か月(計8回)行うプロトコルである。

ここで「教育入院」がMMD療法にどのように関わっているのか解説する。MMD療法では週1回、6時間程度の日帰り入院をする。犬アトピー性皮膚炎の管理が成功しないことが飼い主の実施する治療失宜が多くは関連するため、強制的に動物病院側で治療を行う機会を設けることである。実は、「教育」は放棄して、治療を「請け負う」という発想の転換を行った。

本治療の効果は絶大であり、第155回獣医学会学術集会(岩手)で報告したように、2ヶ月の治療期間で、標準的治療では36%の皮膚スコアの改善率に対して、71%もの改善率がMMD療法では認められた(Fig.3)。

この100%治療効果が保証される上に、改善率も著し

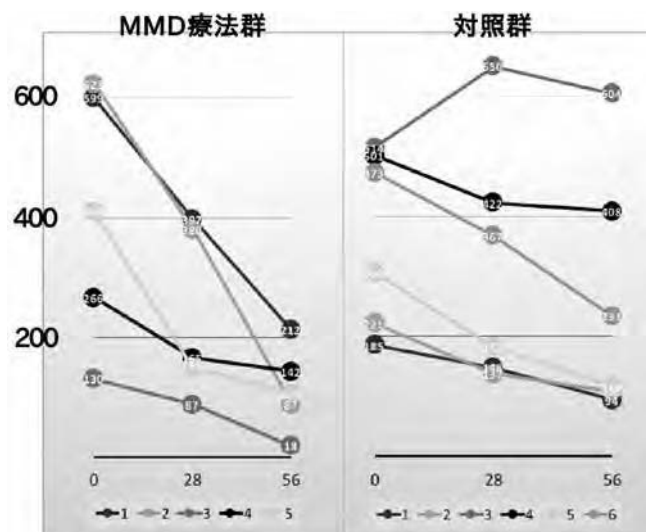


fig 3. CADESI-03 スコア MMD 群 VS 対照群

fig 2. MMD 療法の手順

い治療法であるため、当時本学で博士課程に在籍され、診察にも参加して頂いた荒井延明博士から大いに評価された。ちなみに、疑似セラミドを主成分とした保湿剤の使用のアドバイスと「MMD 療法」という治療法を命名して頂いた経緯があった。2012年頃から同氏が学会などを通じて治療の紹介を始められてから普及が始まり、今では北海道から沖縄まで筆者が開発した治療法が普及していることを確認している。

慢性増殖性皮膚炎からバリア機能の障害へ

慢性増殖性皮膚炎は、皮膚バリア機能が極端に障害された病態である。Fig.4にみられるような皮膚の肥厚が重度で色素沈着も高度な象皮様の皮膚症状は、長期間にわたる



fig. 4. 象皮様皮膚、バリア障害から見た病態

皮膚の掻破、続発性皮膚炎の制御不良が原因で間違いないであろう。組織学的には、角層の錯角化と重度の表皮肥厚が生じている。表皮は、リンパ球の浸潤や海綿状態を生じていることも頻繁にみられる。これらの表皮の変化は皮膚バリア機能が低下した状況を示し、皮膚ターンオーバーの亢進により未成熟な角質層（錯角化と角質層の菲薄化）を誘導し、抗原や刺激物の影響、皮膚常在菌の増殖が表皮の海面状態、表皮内への単核球の侵入を招いている、と犬では想定される。

すでに10年以上も前になるが、皮膚バリア機能が注目され始めた。特に、皮膚のバリア機能に欠かせない蛋白質であるフィラグリン遺伝子の変異が証明された尋常性魚鱗癬の患者がアトピー性皮膚炎を発症することから注目を集めた²⁾。それ以降、皮膚バリア機能の基礎および臨床研究が発展した結果、アレルギー機序の異常による病態の発現の前にこのバリア障害に起こるといふ表皮バリア破綻説³⁾が提唱された。ヤケヒョウヒダニなどの抗原やブドウ球菌からの毒素なども破綻した皮膚バリアを更に障害するとともに通過してアレルギー機序の異常を誘導する、といった発症の機序が想定されている。

皮膚バリア機能

このような皮膚バリア機能がアトピー性皮膚炎の病態へ深くかかわっていることから、獣医皮膚科学の研究内容を大きく舵を切ることとした。それまで、大学院で研究を行っ

た分野である結合織、とくに角化細胞が発現する基底膜に関与する糖たんぱく質であるラミニン-5、を研究しており、前住地での研究テーマとして続けていた^{4,7)}。

東京農工大学で大学院にて師事していた岩崎利郎先生の元で皮膚バリア機能の研究に従事していた島田健一郎博士から皮膚バリア機能研究を共同で研究する機会を得て、非侵襲的にバリア機能を測定する基礎的研究を開始した。

動物看護師の養成する学科に相応しい研究内容への変更を考えた際にも、皮膚疾患における動物看護介入として犬アトピー性皮膚炎に罹患する犬の治療や飼い主（実質の治療者）の支援を想定した。動物看護師が介入できる「相対的医療行為」として、罹患犬の皮膚ケアの専門性を確立する可能性を考えた。皮膚ケアの対象を見る際に、病変部の評価は皮膚バリア機能の評価になる。その点、非侵襲的なバリア機能計測を犬猫で確立することは「皮膚ケア」に繋がる研究になるので、保健看護学科での主要な研究対象とすることとした。

犬と猫の皮膚バリア機能評価法の紹介

1. 犬と猫における経表皮水分蒸散量の測定

非侵襲的に、定量的に生体の角層バリア機能を計測するためには、体内から角層を通過して、（犬猫の場合、表皮に汗腺がないが）表皮組織（上皮）を介してごく僅か蒸散する水分を指標として計測できる。この指標を経表皮水分喪失 (Trans Epidermal Water Loss: TEWL) 量と呼ぶ。そこで非侵襲的に TEWL を測定する機器を犬猫に応用することとした。

2013年度に経表皮水分蒸散量の測定法にポータブル水分蒸散計 (Fig.5: 簡便性に優位性のある機器) を我々が採用した。ネコにおける猫においてポータブル水分蒸散計



fig. 5 ポータブル水分蒸散量測定器と測定風景

の精度が評価されていなかったため、テープストリッピング法 (Fig.6) を用いて精度を証明するとともに、ネコの角層枚数 (Fig.7) に関しても報告をした。しかし、計測日により同部位でも相違する TEWL 値が計測されることから、本ポータブル水分蒸散計の正確性に疑義が報告されていた⁸⁾。ポータブル水分蒸散計の精度を確認するとともに、Fig.8で示したように被毛が TEWL に影響する（攪

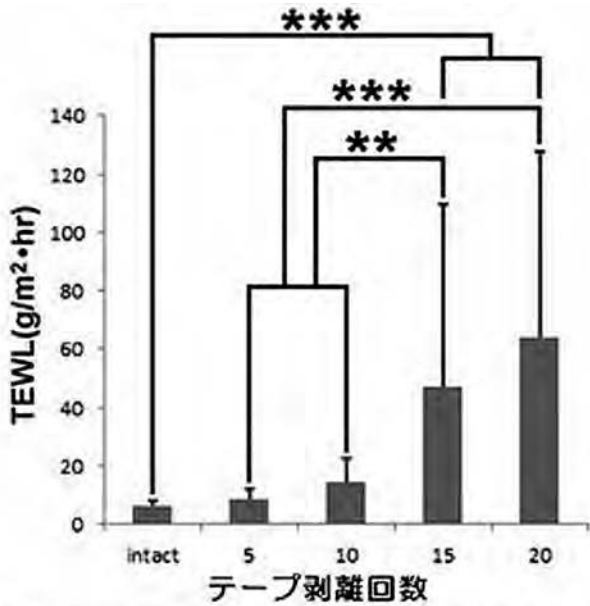


fig. 6 Sequential removal of the layers of the stratum corneum in cats using tape stripping. Transepidermal water loss (TEWL) was measured at the first and after each 5th stripped tape. Values are given as mean \pm SD, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, n = 6.



fig. 7 テープストリッピング法と剥離した角質細胞

乱要因である) ことを証明した⁹⁾。

2. 犬と猫の角層の水分保持機能

皮膚でもっとも問題となる角層表層の水分含有量を非侵襲的に、しかも定量的に測る方法としては、専用のデバイスが応用されている。高周波電流を用い、その伝導度(コンダクタンス)や電気容量(キャパシタンス)をもって角層表層の水分含有量の指標とすることができることを、1980年に田上らが発見した。以来次々と内外で機器が製造発売され(田上らが開発に関わったデバイスはSkicon-200シリーズである)、化粧品を販売する店頭ですら用いられている(Fig.9)。犬ではコルネオメーター(Corneometer、Courage and Khazaka GmbH製)での使用報告があった。ただし、被毛が絶縁体で測定が障害されるため、有毛部では計測ができない問題点があった。

そこで、ヒトで頭髪部での計測に応用されていたASA-MX3(アサヒバイオメド、神奈川)が商品化されていたことから、犬での有毛部での測定に応用できるのか、その精度を調べることにした¹⁰⁾。本計測器は被毛に影響されない

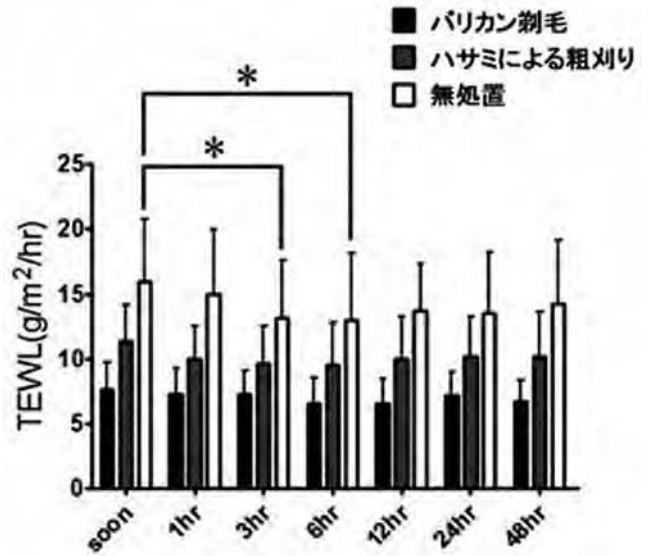


fig. 8 Time course of transepidermal water loss (TEWL) after trimming of hair coat on the measurement sites. Five consecutive measurements of TEWL were performed at 5 min (immediate), then at 1, 3, 6, 12, 24 and 48 h after trimming. The TEWL values at the unclipped site dropped significantly at the 3 and 6 h time points compared with the first time point (immediate), while the TEWL values at the other sites showed no significant change (*P < 0.05, one-way ANOVA with Tukey's multiple comparison test). Each column shows the mean \pm SD (n = 10).

Device	Skicon-200EX	Corneometer CM825	ASA-MX3
Probe			
Diameter (mm) Area (cm²)	5 mm	0.65 cm²	2 mm
Unit	μ S	a.u.	μ S
Depth	15 μ m	> 15 μ m	ND
Frequency	1MHz (High)	3.5MHz (High)	320Hz (Low) 30.7kHz (High)

fig. 9 Features of the three hydrometers.

In the 3rd row, diameter means the diameter of the probe electrode and area is the contact electrode area. In the 5th row, depth means the depth at which there is more than 90% signal reduction in a test using low dielectric foil. In the 6th row, high means high frequency and low means a low frequency. a.u. arbitrary unit, IS micro Siemens, ND not determined.

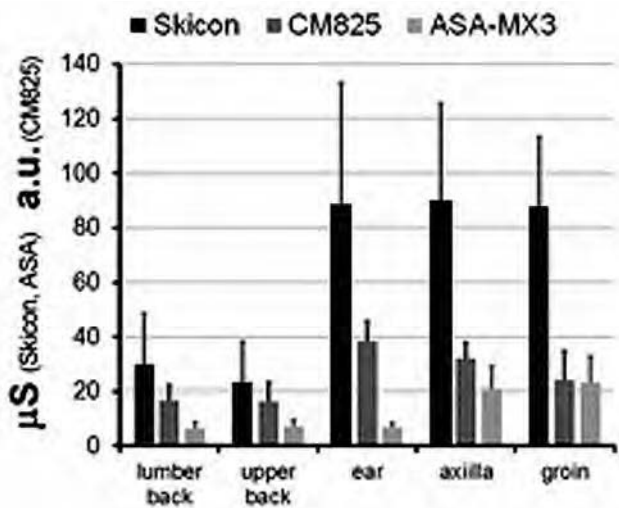


fig 10. 三種の角層水分計の各部位での測定

ようにプローブ先端が細く、伝導度による計測が採用されていた。伝導度の測定は高周波が既存のデバイスでは採用されていたが、計測部表面の水分（例えば、ごく微量な汗）に強く影響されるが、本デバイスでは低周波と高周波の組み合わせにより欠点をカバーする方式が採用されていた。ここで問題であることは、角質水分量は伝導度と電気容量による計測法の違い、周波数、計測器のプローブ形状に影響を受けるため、デバイス毎に計測単位および皮膚における標準値も共通していない。そこで、最も世界で採用されている Corneometer、研究分野で実績が極めて高い Skicon、我々が採用する AMA-MX3 の3つのデバイスを比較することとした (Fig.10)。Skicon、および AMA-MX3 の犬への応用は本論文が初めての試みであった。

Skicon は電導度で計測されるが、高周波測定のため皮膚表面の水分量に過敏に反応する。犬でも同様の傾向が示され、標準偏差が非常に大きい結果であった。一方、Corneometer は電気容量で測定され、プローブ接触面積が一番大きく、プローブ表面の接点が多数存在する特殊形状である。その上、計測単位も AU (任意単位) という非常にユニークなデバイスである。皮膚表面から深部 (表面から 15 マイクロメートル以上) の電導度を測定するため測定値が非常に安定 (標準偏差が小さい) することが特徴である。これまでの犬の報告と同様に前述の特徴を示し、解剖学的部位における測定値の違いもよく反映し、感度が非常に良好であった。AMA-MX3 は、Corneometer に非常に似た計測値を得られた。理由は不明であるが、耳介部での測定は困難であった。デバイス間の感度を比較するために、ワセリンで保湿した直後から角層水分量の計測を行った (Fig.11)。Skicon が一番感度が高く、AMA-MX3 が一番低い結果であった。

本題である有毛部での計測 (Fig.12) であるが、剃毛部と有毛部 (剃毛前) の測定値の差に有意差がない (変化しない) のは、唯一 AMA-MX3 のみであった。この結果から、AMA-MX3 は感度がやや劣るものの有毛部でのデータ採取に一番最適なデバイスと結論付けた。

3. 犬と猫の剥離角層面積の評価

角質層は、皮膚バリア機能が大きく依存する、重要な因子である。角質は成熟するにつれ扁平化、表面積が拡大し、最終的に剥離される。この角質の表面積を測定することが皮膚バリア機能の指標としてヒトでは利用されている。そこで、犬でも指標として利用することを我々は企画した。具体的な方法として、セロテープで剥離した角質を固定・

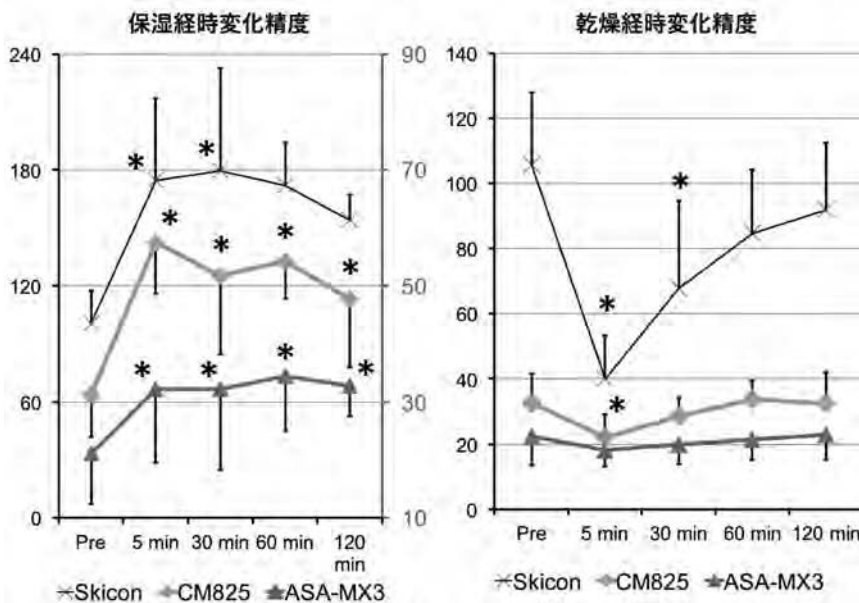


fig 11. 角層水分計の感度比較

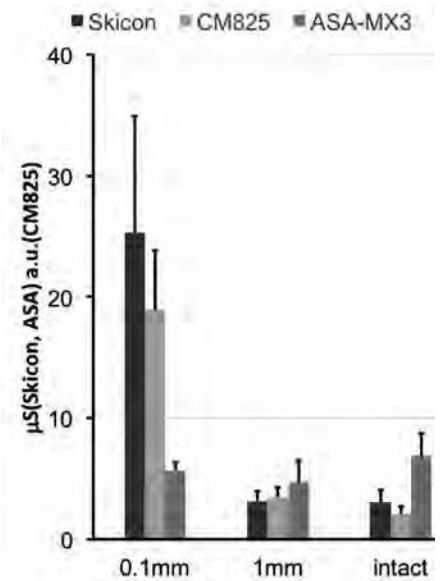


fig 12. 育毛部での計測精度

染色したのちに光学顕微鏡下で面積を測った。この方法を「剥離角質面積」を呼称されている。ただし、McEwanら(2009)により剥離角質面積の測定は報告されていた¹¹⁾。しかし、肝心の生理機能の評価が全くできていなかった。

そこで、皮膚バリア機能の代表的な指標である経表皮水分蒸散量 TEWL と比較して剥離角質面積が犬でも指標として有効か検討した¹²⁾。テープストリッピング法を用いて、

角質が未成熟なほど(深部ほど)剥離角質面積が小さくなっていき、同時に TEWL 値が上昇する、剥離角質面積が負の相関関係にあることを証明した (Fig.13)。

さらに、解剖学的部位によってバリア機能に違いがあることを TEWL および剥離角質面積の測定により証明した (Fig.14)。

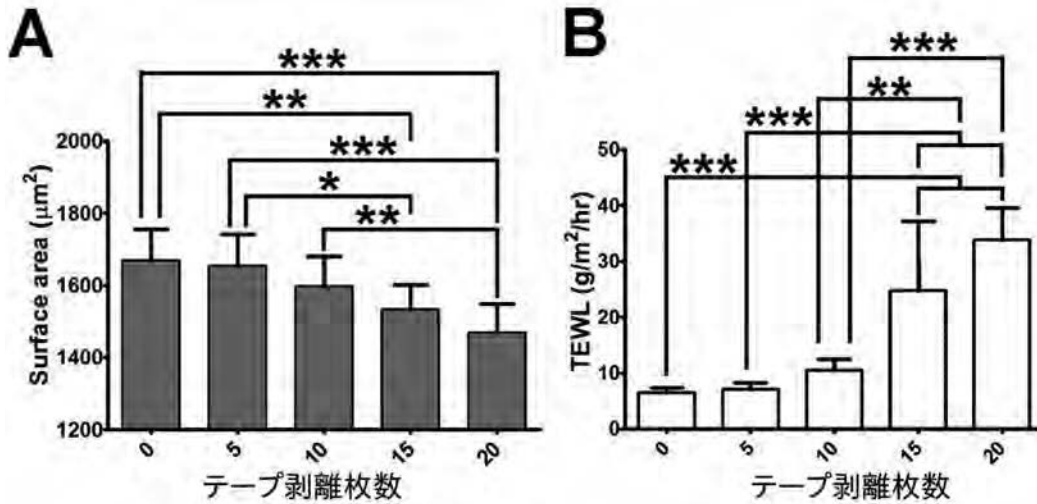


fig 13. 角層深度における剥離角質面積と TEWL

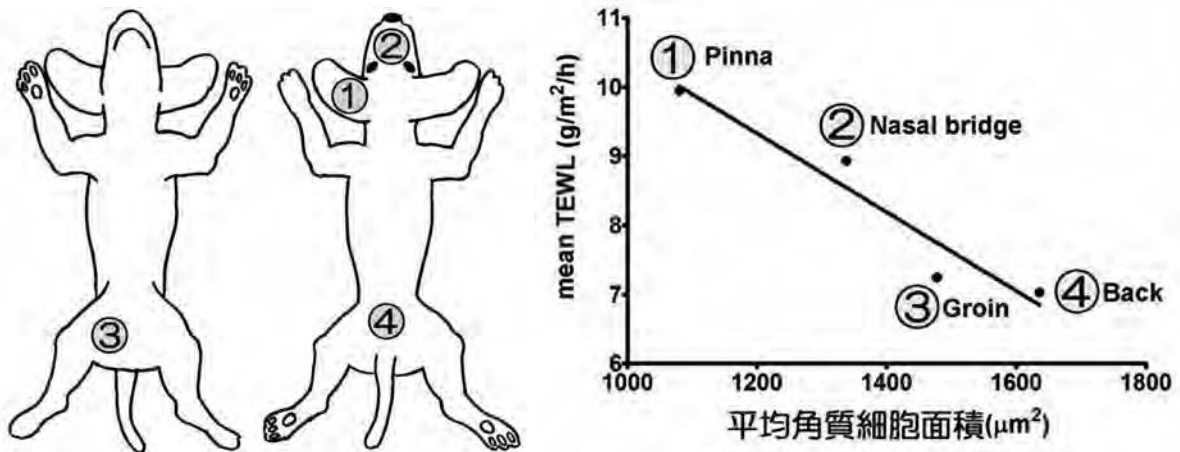


fig 14. 解剖学的部位とバリア機能

イヌ・クッシング症候群が惹起するフィトスフィンゴシン骨格セラミドの減少の病態解明

これまで紹介したように、皮膚バリア機能の測定法を犬猫で確立するために研究を行ってきた。そこで、疾患における皮膚バリア機能を測定した結果を紹介する。副腎皮質機能亢進症(クッシング症候群)の犬の皮膚は菲薄化が目立ち、皮膚バリア機能の低下が起こっていると多くの獣医師が逸話的に信じている。しかし、犬における皮膚バリア

機能を評価した報告がまったくないどころか、ヒトでも評価されていない(注:ステロイド外用剤による皮膚バリア機能障害の研究は豊富である)。犬のクッシング症候群は発症頻度が高く、日常診療で遭遇するのに関わらず、ヒトの疾患モデルとして注目されてこなかった。筆者は、犬のクッシング症候群における皮膚バリア機能の異常をはじめ国際学会で報告した(第8回・世界獣医皮膚科学会)。剥離角質面積が有意に低い群において、皮膚バリア機能が

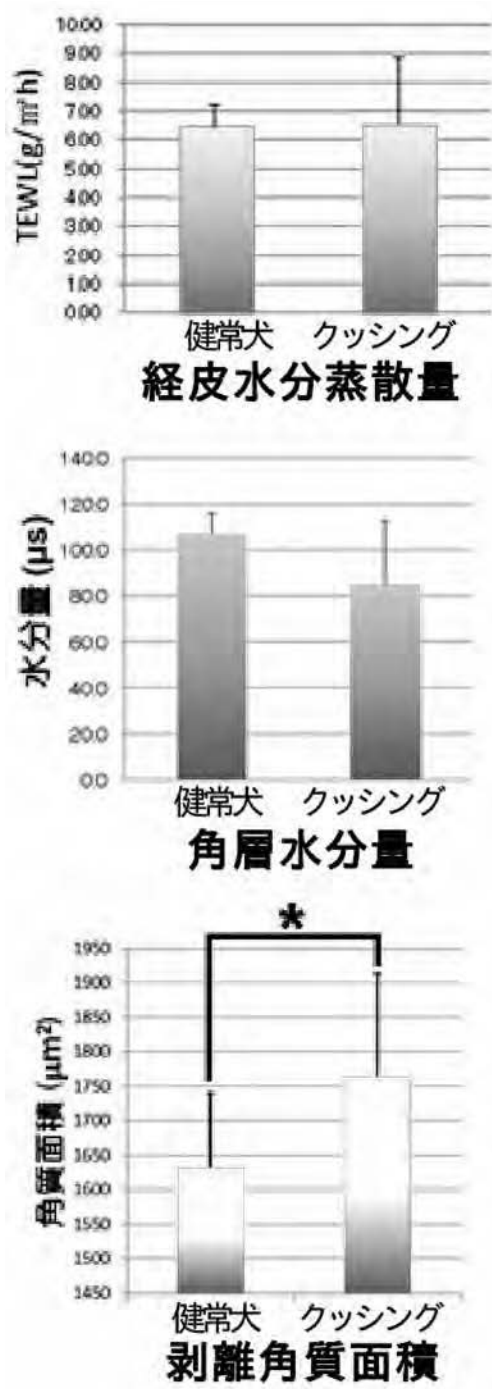


fig 15. 犬クッシング症候群バリア機能の評価

低下していることを明らかにした (Fig.15)。

健常犬との間に TEWL、角層水分量に有意差がなかった。しかし、剥離角質面積には有意差があった。このことから、非侵襲的に計測される皮膚バリア機能では大きな障害を認めないが、コルチゾールの影響で角質のターンオーバーが正常より遅延していることが示唆された。一方、重度な場合に皮膚バリア機能の障害を認めることは確認している。しかし、例数が少ないため、更なるデータの収集が必要である。

さいごに

筆者は獣医師であるが、動物看護師の養成を目的とする獣医保健看護学科に着任したことを機会に、動物看護師が取り組むことができる「相対的医療行為」にあたる研究が必要と認識した。代表的な皮膚科疾患である、犬アトピー性皮膚炎は、食事、皮膚ケアのための保湿療法、シャンプー療法など「相対的医療行為」の範疇にあたる看護介入に最適な手段が多いことを松原孝子教員から重要な示唆として教えていただく機会を得た。そこで、皮膚バリア機能が最適と考えた。この研究を広めるために、「動物看護美容皮膚科学会」を立ち上げ、すでに2年目に入った。参加者は少ないものの、熱心な参加者たちと動物看護に貢献する皮膚科学として発展させていこうを奮闘中である。興味のある方は筆者まで問い合わせいただきたい。

また、難治性の慢性増殖性皮膚炎に対する新規の治療として、ステロイド外用パルス療法 (MMD 療法) を開発し、普及に努めている。すでに日本全国に本治療を採用している動物病院が広がっている。この治療法以外にもすでに開発している検査法や治療法を筆者は準備している。引き続き、臨床獣医師ならびに動物看護師に供する研究や治療法を開発、普及に尽力したいと考えている。

謝辞

この度は梅野信吉賞という名誉ある賞を頂き、大変感謝しております。阿久澤学長をはじめ、推薦をしていただきました近江教授、選考委員の先生方、副賞を贈呈頂きました同窓会の皆様に御礼申し上げます。出身校でお世話になりました山根義久先生 (公益財団法人 動物臨床医学研究所、東京農工大学名誉教授)、大学院でお世話いただきました岩崎利郎先生 (東京農工大学名誉教授)、故人であります、国内留学先の千葉大学医学部皮膚科医局で研究のイロハおよびヒトの皮膚科臨床を教えていただいた宇谷厚志教授 (長崎大学医学部皮膚科教授) に心より感謝申し上げます。また、シャンプーカウンセリングという、著者にとって興味深い概念を提案された松原孝子先生でした。松原先生は、唯一の看護教員出身の動物看護師であり、看護師と動物看護師でもある経緯から、動物看護過程の提唱者となるとともに、普及者でもある有為な人物であるため、池本前学長により招聘されたのであった。今後も教えを乞うことが動物看護師の地位向上の基礎を固めるのに重要であることを著者の結びの言葉として標しておきたい。

参考文献

- 1) GROSS, T.L., IHRKE, P.J., WALDER, E.J. WALDER, E.J. and AFFOLTER, V.K. (2005). Hyperplastic Diseases of the Epidermis. Skin diseases of the dog and cat. 2nd ed. (Gross, T.L. ed.). Blackwell Publishing, Oxford, pp.136-138.
- 2) PALMER, C.N., IRVINE, A.D., TERRON-KWIATKOWSKI, A., ZHAO, Y., LIAO, H., LEE, S.P.,

- GOUDIE, D.R., SANDILANDS, A., CAMPBELL, L.E., SMITH, F.J., O'REGAN, G.M., WATSON, R.M., CECIL, J.E., BALE, S.J., COMPTON, J.G., DIGIOVANNA, J.J., FLECKMAN, P., LEWIS-JONES, S., ARSECULERATNE, G., SERGEANT, A., MUNRO, C.S., EL, HOUATE, B., MCELREAVEY, K., HALKJAER, L.B., BISGAARD, H., MUKHOPADHYAY, S. and MCLEAN, W.H. (2006). Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *38*, 441-446
- 3) CORK, M.J., DANBY, S.G., VASILOPOULOS, Y., HADGRAFT, J., LANE, M.E., MOUSTAFA, M., GUY, R.H., MACGOWAN, A.L., TAZI-AHNINI, R. and WARD, S.J. (2009). Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, *129*, 1892-1908.
- 4) MOMOTA, Y., UTANI, A., ENDO, H., KASUYA, Y., BECK, K., SUZUKI, N., NOMIZU, M. and SHINKAI, H. (*Both authors equally contributed to this work.) (2003). Laminin α 3 LG4 module induces matrix metalloproteinase-1 through mitogen-activated protein kinase signaling. *J. Biol. Chem.*, *278*, 34483-34490.
- 5) MATSUURA, H., MOMOTA, Y., MURATA, K., MATSUSHIMA, H., SUZUKI, N., NOMIZU, M., SHINKAI, H. and UTANI, A. (2004). Localization of the Laminin α 4 Chain in the Skin and Identification of a Heparin-Dependent Cell Adhesion Site Within the Laminin α 4 Chain C-Terminal LG4 Module. *J. Invest. Dermatol.*, *122*, 614-620
- 6) MOMOTA, Y., SUZUKI, N., KASUYA, Y., KOBAYASHI, T., MIZOGUCHI, M., YOKOYAMA, F., NOMIZU, M., SHINKAI, H., IWASAKI, T. and UTANI, A. (2005). Laminin α 3 LG4 Module Induces Keratinocyte Migration: Involvement of Matrix Metalloproteinase-9. *J. Recept. Signal Transduct. Res.*, *25*, 1-17.
- 7) ARAKI, E., MOMOTA, Y., TOGO, T., TANIOKA, M., HOZUMI, K., NOMIZU, M., MIYACHI, Y. and UTANI, A. (2009). Clustering of Syndecan-4 and Integrin β 1 by Laminin α 3 Chain-derived Peptide Promotes Keratinocyte Migration. *Mol. Biol. Cell.*, *20*, 3012-3024.
- 8) LAU-GILLARD, P.J., HILL, P.B., CHESNEY, C.J., BUDLEIGH, C. and IMMONEN, A. (2010). Evaluation of a hand-held evaporimeter (VapoMeter) for the measurement of transepidermal water loss in healthy dogs. *Vet. Dermatol.*, *21*, 136-145.
- 9) MOMOTA, Y., SHIMADA, K., TAKAMI, A., AKAOGI, H., TAKASAKI, M., MIMURA, K., AZAKAMI, D., ISHIOKA, K., NAKAMURA, Y. and SAKO, T. (2013). Transepidermal water loss in cats: comparison of three differently clipped sites to assess the influence of hair coat on transepidermal water loss values. *Vet. Dermatol.*, *24*, 450-452
- 10) MOMOTA, Y., SHIMADA, K., MINORIKAWA, N., GIN, A., MATSUBARA, T., NAKAMURA, Y., KATAYAMA, M. and SAKO, T. (2017). Application of three hygrometers under different skin conditions in dogs: dry, moist and haired skin. *Vet. Dermatol.*, *28*, 554-e131.
- 11) MCEWAN, N.A., LU, Y.F. and NUTTALL, T. (2009). A two-dimensional morphological study of corneocytes from healthy dogs and cats and from dogs with atopic dermatitis. *Vet. Dermatol.*, *20*, 360-368.
- 12) MOMOTA, Y., SHIMADA, K., GIN, A., MATSUBARA, T., AZAKAMI, D., ISHIOKA, K., NAKAMURA, Y. and SAKO, T. (2016). Measurement of transepidermal water loss (TEWL) in cats with experimental skin barrier dysfunction using a closed chamber system. *Vet. Dermatol.*, *27*, 428-e110.
-