

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18909

研究課題名(和文) 化学物質が誘発する皮膚疾患におけるプロスタグランジン合成酵素の役割の検討

研究課題名(英文) Role of Prostaglandin Synthases in chemical-induced skin diseases

研究代表者

佐々木 由香 (Sasaki, Yuka)

昭和大学・薬学部・助教

研究者番号：40635108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：DNFB (dinitrofluorobenzene) による接触性皮膚炎はPGIS KOマウス、mPGES-1 KOマウスともに抑制された。次に、DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene)およびTPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)による皮膚発がんについて検討したところ、mPGES-1 KOマウスでは顕著に抑制された。一方、mPGES-1に加えてPGISも欠損させたPGIS/mPGES-1 DKOマウスではmPGES-1単独の遺伝子欠損マウスと比較して発がんが促進された。

研究成果の概要(英文)：Prostacyclin Synthase (PGIS) and microsomal Prostaglandin E2 Synthase (mPGES)-1 are terminal enzymes that act downstream of cyclooxygenase (COX)-2 in the PG12 and PGE2-biosynthetic pathway, respectively. In this study, we analyzed the role of PGIS and mPGES-1 in skin dermatitis and skin carcinogenesis. Both in PGIS knockout (KO) mice and mPGES-1 KO mice, DNFB (dinitrofluorobenzene) induced contact hypersensitivity was suppressed than that of WT mice. We performed immunohistochemical analysis. mPGES-1 expressed in keratinocytes and leukocytes and PGIS expressed in vascular cells. Next, we examined role of mPGES-1 and PGIS in 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)/12-O-tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced two-steps skin carcinogenesis. Formation of papillomas induced by DMBA/TPA was suppressed in mPGES-1 KO mice, compared to WT mice. On the other hands, DMBA/TPA-induced papilloma formation was increased in mPGES-1/PGIS double KO mice, compared to mPGES-1 KO mice.

研究分野：衛生薬学

キーワード：プロスタグランジン プロスタサイクリン 接触性皮膚炎 皮膚発がん mPGES-1 PGIS

1. 研究開始当初の背景

建材や化粧品など、私たちの身の回りに存在する化学物質の中には、皮膚炎やアレルギー反応を引き起こすものも少なくない。化学物質によって皮膚疾患が生じる機構を明らかとすることはこれらの疾患予防に非常に重要である。

皮膚における炎症反応は皮膚がんの発症につながる事が指摘されている。皮膚がんは発がん性化学物質やUVによってイニシエーションが起こり、さらに発がんプロモーターによるプロモーションに続きプログレスションが起こることで発症する。

非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)はプロスタグランジン(PG)産生を抑制することで炎症反応を抑制するが、皮膚においては反対にアレルギー性皮膚炎を増悪化することも知られている。私たちはPG産生の最終段階を担う酵素であるmPGES-1およびPGISがそれぞれPGE₂、PGL₂産生を介して炎症反応を促進することを報告してきた。また、PGE₂受容体と皮膚の炎症性疾患の関与については報告があるが、mPGES-1、PGISの皮膚疾患への関連についてはほとんど報告されていない。

2. 研究の目的

これまでに申請者らはmPGES-1が炎症をはじめとする病態下で発現し、PGE₂を産生し、炎症性疾患を促進することを明らかとしてきた。本研究では、様々な化学物質による炎症性皮膚疾患モデルおよび発がんモデルを用い、化学物質がmPGES-1の発現およびPGE₂産生にどのような影響を及ぼすのか検討し、mPGES-1の化学物質による皮膚疾患への役割について明らかとする。また、PGL₂の安定誘導体は微小循環を改善し、皮膚潰瘍の治癒を促進することが報告されている。しかし、皮膚疾患におけるPGL₂の役割について詳細な機構は明らかとなっていない。皮膚疾患の治癒をPGL₂が促進するのならば、既存のNSAIDsによってPGL₂産生を抑制するよりも、炎症に関わるPGE₂産生のみを抑制するmPGES-1阻害薬の方が有用である可能性も期待される。そこで、皮膚疾患へのPGISの関与についても解析を行う。

3. 研究の方法

化学物質による皮膚疾患の発症機構へのPG最終合成酵素の役割を明らかとするために、野生型マウスおよびmPGES-1 KO、PGIS KO、mPGES-1/PGIS 両欠損マウスを用いて、以下の化学物質による皮膚炎および皮膚発がんモデルの解析を行った。

(1) DNFB (dinitrofluorobenzene)誘導接触性皮膚炎モデルの解析

Balb/c系マウスの腹部にDNFBを塗布したのち、5日間おいて感作を成立させる。5日後、マウス耳介皮膚にDNFBを塗布し、継時的に耳介の厚さを測定した。このときの耳介組織中PG量をLC-MSを用いて測定した。また、接触性皮膚炎に関連するmRNA発現を定量的PCRにて解析した。

さらに、PGIS KOマウスの骨髄細胞をX線によって破壊し、野生型マウスの骨髄細胞を移植することで骨髄細胞のみ野生型のPGIS KOマウスを作製した。同様に、野生型マウスにPGIS KOマウスの骨髄細胞を移植し、骨髄細胞のみPGISを欠損させたマウスを作製した。これらのマウスを用いて接触性皮膚炎を惹起し、骨髄由来細胞の持つPGISの接触性皮膚炎への寄与について解析した。

(2) DMBA (7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene)/TPA (12-*O*-tetradecanoylphorbil-13-acetate)誘導皮膚発がんモデルの解析

Balb/c系マウスの背部皮膚にDMBAを塗布し、1週間後から週に2回TPAを塗布した。20週後に生じた腫瘍数を数えるとともに、皮膚組織の病理学的解析、PG産生、発がんに関わる遺伝子発現を解析した。

4. 研究成果

(1) 野生型マウスにDNFBによる接触性皮膚炎を惹起したところ、DNFBを耳介に塗布してから2日後をピークとして耳介が肥厚した。DNFBを耳介に単回塗布した際には肥厚の程度も小さく、mPGES-1 KOマウス、PGIS KOマウスともに野生型マウスと同程度の耳介の肥厚が認められた。しかし、mPGES-1 KOマウスおよびPGIS KOマウスにDNFBによる接触性皮膚炎を惹起したところ、mPGES-1 KOマウス、PGIS KOマウスともに2日後をピークとして耳介が肥厚したものの、野生型マウスと比較してピーク時の耳介の肥厚が抑制されていた。

DNFBを耳介に塗布してから2日後の耳介組織中PG量を測定したところ、野生型マウスと比較してmPGES-1 KOマウスではPGE₂産生が顕著に抑制されており、PGIS KOマウスではPGL₂代謝物である6-ketoPGF_{1 α} は検出されなかった。次に、耳介組織におけるmPGES-1、PGISの発現局在を免疫組織染色にて解析したところmPGES-1は耳介の表皮、浸潤してきた白血球に陽性像が認められたことに對し、PGISは血管、白血球、軟骨組織周辺に陽性像が認められ、発現局在は異なることが明らかとなった。また、PGIS KOマウスの耳介組織では、IFN γ 、TNF α のmRNA発現が抑制されていた。一方、mPGES-1 KOマウスではこれらのサイトカイン発現は野生型マウスと同程度であった。

さらに、骨髄由来細胞の発現するPGISの役割について検討を行った。PGIS KOマウスに野生型マウスの骨髄細胞を移植しても、PGIS KOマウスの骨髄細胞を移植しても、耳介の肥厚は同程度であった。同様に、野生型マウスにPGIS KOマウスの骨髄細胞を移植しても、野生型マウスの骨髄細胞を移植して

も、耳介の肥厚に影響はなく、骨髄由来細胞の発現する PGIS は DNFB による接触性皮膚炎に関与しないことが示唆された。

mPGES-1 は血球細胞に発現が認められ、樹状細胞に発現しているという報告もあることから、樹状細胞に発現する mPGES-1 が PGE₂ を産生し、樹状細胞および T 細胞に作用して接触性皮膚炎を促進している可能性が考えられる。また、PGIS は今回の検討でも認められたように主に血管に発現していることから、血管内皮細胞などによって産生された PGI₂ が樹状細胞などの免疫細胞に作用した可能性が考えられた。

今回の検討により、mPGES-1 と PGIS の欠損はともに DNFB による接触性皮膚炎を抑制するが、責任細胞や機構は異なることが示唆された。今後、さらに詳細な検討を進める必要がある。

(2) DMBA 塗布から 10 週後より野生型マウスの皮膚に腫瘍ができはじめ、20 週後にはすべてのマウスに腫瘍が認められた。このとき、腫瘍組織では PGE₂ 産生が顕著に増加していた。一方、mPGES-1 KO マウスでは 16 匹中 2 匹にしか腫瘍が形成されず野生型マウスと比較して発がん率が顕著に抑制されており、腫瘍数も減少していた。このとき、mPGES-1 KO マウスの腫瘍組織では PGE₂ 産生の増加が抑制されていた。次に、PGIS KO マウスを用いて検討したところ、野生型マウスと同程度の発がん率および腫瘍数であった。しかし、mPGES-1 と PGIS をともに欠損させた DKO マウスでは mPGES-1 KO マウスよりも発がんが促進されていた。

mPGES-1 の欠損は皮膚においても発がんを抑制した。また、PGIS の欠損は mPGES-1 を欠損させて発がんを抑制させた条件下では発がんを促進させ、皮膚発がんにおいては mPGES-1 と PGIS は反対の役割を担うことが示唆された。

本研究により、mPGES-1 と PGIS の欠損はほかの炎症反応と同様に、DNFB によるアレルギー性接触性皮膚炎も抑制させることが明らかとなった。一方、DMBA /TPA による皮膚発がんは mPGES-1 の欠損によって抑制されるものの、PGIS 単独の遺伝子欠損マウスでは影響は認められなかった。これまでに、大腸発がんや膀胱発がんにおいては PGIS の欠損によって発がんが促進されたが、皮膚においては PGI₂ はほかの PG と比較して産生量も少なく、PGIS の影響も小さいことも考えられた。

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 2 件)

Yuka Sasaki, Shuhei Kamiyama, Azusa

Kamiyama, Konomi Matsumoto, Moe Akatsu, Yoshihito Nakatani, Hiroshi Kuwata, Toshiharu Ishii, Chieko Yokoyama, Shuntaro Hara
Genetic-deletion of Cyclooxygenase-2 Downstream Prostacyclin Synthase Suppresses Inflammatory Reactions but Facilitates Carcinogenesis, unlike Deletion of Microsomal Prostaglandin E Synthase-1., Scientific Reports, 査読有, 2015, 5, 17376, 1-11, DOI: 10.1038/srep17376.

Yuka Sasaki, Tsubasa Ochiai, Masaya Takamura, Yukihiro Kondo, Chieko Yokoyama, Shuntaro Hara
Role of prostacyclin synthase in carcinogenesis, Prostaglandins and Other Lipid Mediators, 査読有, in press

[学会発表](計 9 件)

佐々木 由香, 遠藤 勇氣, 鈴木 康友, 近藤幸尋, 横山 知永子, 原 俊太郎, プロスタサイクリン合成酵素 (PGIS) の化学発がんにおける役割, フォーラム 2016: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2016 年 9 月 10 日, 昭和大学旗の台キャンパス (東京都品川区)

佐々木 由香, 遠藤 勇氣, 鈴木 康友, 近藤幸尋, 横山 知永子, 原 俊太郎, プロスタサイクリン合成酵素の発がんにおける役割, 第 17 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム, 2016 年 9 月 3 日, 帝京大学 (東京都板橋区)

佐々木由香, 落合翔, 横山知永子, 原俊太郎, 接触性皮膚炎におけるプロスタグランジン最終合成酵素の役割, 第 43 回日本毒理学学会学術年会, 2016 年 6 月 29 日, 東北大学 (宮城県仙台市)

Yuka Sasaki, Tsubasa Ochiai, Chieko Yokoyama and Shuntaro Hara, Critical Role for Prostacyclin Synthase in Contact Hypersensitivity mouse model., 7th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators, 2016 年 5 月 19 日, UCSD (La Jolla, California, US)

佐々木由香, 横山知永子, 原俊太郎, 皮膚化学発がんにおけるプロスタグランジン合成酵素の役割, BMB2015, 2015 年 12 月 3 日, 神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

佐々木由香, 横山知永子, 原俊太郎, 化学発がんにおけるプロスタグランジン最終合成酵素の役割, フォーラム 2015: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2015 年 9 月 17 日, 神戸学院大学ポートアイランドキャンパス (兵庫県神戸市)

Yuka Sasaki, Shuntaro Hara, Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 (mPGES-1)

deficiency suppresses chemical carcinogen induced carcinogenesis. 14th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases, 2015年7月13日、Budapest, Hungary

佐々木由香、原俊太郎、膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素、mPGES-1 の化学発がんへの関与、第 42 回日本毒性学会学術年会、2015年6月29日、ホテル日航金沢（石川県金沢市）

佐々木由香、会田衣利、原俊太郎、膜結合型プロスタグランジン E 合成酵素（mPGES-1）の発がんにおける役割、第 57 回日本脂質生化学会、2015年5月28日、一橋大学一橋講堂（東京都千代田区）

〔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

佐々木 由香 (SASAKI, Yuka)
昭和大学・薬学部・助教
研究者番号：40635108

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()