

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440036

研究課題名(和文)皮膚疾患におけるリン脂質動態の解析

研究課題名(英文)The role of phospholipid metabolism in skin diseases

研究代表者

中村 由和 (Nakamura, Yoshikazu)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号：60366416

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において乾癬様皮膚炎症時のマウス表皮ではイノシトールリン脂質であるホスファチジルイノシトール(3,4,5)-三リン酸(PI(3,4,5)P3)やその下流シグナルに変化が見られることが明らかになった。さらに、イノシトールリン脂質分解酵素ホスホリパーゼC(PLC)delta1の減少時に見られる皮膚炎症の発症や重症化に關与する細胞内シグナル伝達経路を明らかにした。以上の結果より、PI(3,4,5)P3やPLCdelta1下流シグナルと乾癬様皮膚炎症との關連が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We observed the change in the amount of PI(3,4,5)P3 and the activity of PI(3,4,5)P3 downstream signals in the epidermis of mice with psoriasis-like dermatitis. We also found signaling molecules involved in skin inflammation in phospholipase C(PLC) delta1 knockout mice. Our results contribute to understanding of the roles of PI(3,4,5)P3 and PLC delta1 downstream signals in psoriasis-like dermatitis.

研究分野：脂質生化学

キーワード：皮膚 ケラチノサイト ホスホリパーゼ イノシトールリン脂質

1. 研究開始当初の背景

皮膚の最外層に位置する表皮は体内と外界を隔てるバリアとして働いている。表皮は主にケラチノサイトから構成されており、正常な表皮構造やバリア機能の維持にはケラチノサイトの増殖と分化のバランスが正常に保たれていることが重要である。ケラチノサイトの増殖と分化は様々な細胞内シグナル伝達経路によって調節されており、イノシトールリン脂質代謝経路もケラチノサイトの増殖、分化制御に重要な役割を果たすシグナル伝達経路の一つである。イノシトールリン脂質の一種であるホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 (PI(4,5)P₂)は細胞増殖や生存に重要な役割を果たすホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 (PI(3,4,5)P₃)の前駆体となる。また PI(4,5)P₂ がホスホリパーゼ C (PLC)により分解された際にはセカンドメッセンジャーが産生され、様々な細胞応答が誘導される。研究開始当初の時点で、我々は PLC の一つである PLC δ 1 をケラチノサイトにおいて欠損したマウスがヒトの炎症性皮膚疾患である乾癬に一部類似した皮膚炎を自然発症するという結果を得ていた (Kanemaru K., Nakamura Y. *et al.* Nat. Commun. 2012)。

2. 研究の目的

前述の様にケラチノサイトにおいて PLC δ 1 を欠損したマウスがヒト乾癬に一部類似した皮膚炎を自然発症することが明らかになっていたが、その詳細な分子機構は不明であった。PLC δ 1 はイノシトールリン脂質を代謝する酵素であるためケラチノサイトにおいて PLC δ 1 を欠損したマウスの表皮ではイノシトールリン脂質の量に変化が生じている可能性が高い。そこで本研究では乾癬様皮膚炎発症後または発症前のケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスの表皮においてイノシトールリン脂質の量にどのような変化が見られるかを明らかにし、乾癬様皮膚炎の発症や悪化に關与する可能性のあるイノシトールリン脂質を特定することを目的とした。さらに、本研究ではケラチノサイトにおいて PLC δ 1 を減少させた際にどのような細胞内シグナル伝達経路に変化が見られるのかを明らかにすることにより PLC δ 1 の欠損による乾癬様皮膚炎誘導の詳細な分子機構を解明し、そこを標的として乾癬様皮膚炎の病態を改善することも試みた。

3. 研究の方法

本研究ではヒト乾癬に類似した皮膚炎を示すマウスとしてケラチノサイト特異的に PLC δ 1 を欠損したマウスとイミキモド塗布により乾癬様皮膚炎を誘導したマウスを用い、イノシトールリン脂質の量やその下流シグナルについての解析を行った。具体的には質量分析によるイノシトールリン脂質量の測定やイノシトールリン脂質下流で活性

化される因子の活性化状態の検討を行った。また、siRNA により PLC δ 1 を発現抑制したケラチノサイトを用いて作製した三次元培養ヒト皮膚モデルも必要に応じて解析に使用した。

4. 研究成果

(1) 乾癬様皮膚炎発症前後の表皮における PI(3,4,5)P₃ 量とその下流シグナル活性の変化

イミキモドによりマウスに乾癬様皮膚炎を誘導した際に病変部のケラチノサイトで PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルの活性化が見られることが明らかになった。さらに乾癬様皮膚炎発症後のケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスの表皮においても PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルの過剰活性化が観察された。次に、PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルの変化が乾癬様皮膚炎発症前のケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスの表皮においても観察されるのかを検討した。その結果、乾癬様皮膚炎発症前のケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスの表皮では乾癬様皮膚炎発症後の表皮とは対照的に PI(3,4,5)P₃ 下流シグナルが抑制されていることが明らかになった。さらに、皮膚炎発症前の表皮におけるイノシトールリン脂質の量の変化を質量分析により調べたところケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスの表皮では PI(3,4,5)P₃ 量の減少が確認された。一方、PI(3,4,5)P₃ 以外のイノシトールリン脂質の量には明らかな変化は見られなかった。以上の結果より、イミキモド塗布したマウスやケラチノサイト特異的 PLC δ 1 欠損マウスで見られる乾癬様皮膚炎では皮膚炎発症に先立ち PI(3,4,5)P₃ が減少するが、一旦、皮膚炎が発症した後は PI(3,4,5)P₃ が増加することが示唆され、PI(3,4,5)P₃ の量の変化が乾癬様皮膚炎の発症や悪化に關与する可能性が考えられた。

(2) PLC δ 1 の欠損により乾癬様皮膚炎が誘導される分子機構の解明

ケラチノサイトにおいて PLC δ 1 が減少することにより乾癬様皮膚炎が誘導される詳細な分子機構を解明するために、ケラチノサイトにおいて PLC δ 1 を減少させた際にどのような細胞内シグナル伝達経路に変化が見られるのかを検討した。その結果、PLC δ 1 の減少により p38 マップキナーゼ (MAPK) の過剰活性化が誘導され皮膚バリア機能が低下することが明らかになった。そこで p38 MAPK の過剰活性化が乾癬様皮膚炎の発症や悪化に關与するのかを明らかにするために、PLC δ 1 欠損マウスの皮膚やイミキモド塗布により乾癬様皮膚炎を誘導したマウスの皮膚を p38 MAPK 阻害剤で処理した。その結果、p38 MAPK 阻害剤処理により乾癬様皮膚炎の症状が軽減された。以上の結果より PLC δ 1 の減少は p38MAPK の過剰活性

化を誘導することにより乾癬様皮膚炎症の発症や悪化を引き起こしているものと考えられた (Kanemaru K., Nakamura Y. *et al.* *Cell Death Differ.* 2017)。

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 5 件)

- 1 Kanemaru K., Nakamura Y. (co-1st and co-corresponding), Totoki K., Fukuyama T., Shoji M., Kaneko H., Shiratori K., Yoneda A., Inoue T., Iwakura Y., Kabashima K., and Fukami K. Phospholipase C δ 1 regulates p38 MAPK activity and skin barrier integrity. *Cell Death Differ.* 24, 1079-1090 (2017) 査読有り
doi: 10.1038/cdd.2017.56.
- 2 Nakamura Y., and Fukami K. Regulation and physiological functions of mammalian phospholipase C. *J. Biochem.* 161, 315-321 (2017) 査読有り
doi: 10.1093/jb/mvw094.
- 3 Kudo K., Uchida T., Sawada M., Nakamura Y., Yoneda A., and Fukami K. Phospholipase C δ 1 in macrophages negatively regulates TLR4-induced proinflammatory cytokine production and Fc γ receptor-mediated phagocytosis. *Adv. Biol. Regul.* 61, 68-79 (2016) 査読有り
doi: 10.1016/j.jbior.2015.11.004.
- 4 Kanemaru K., Matsuyuki A., Nakamura Y. (corresponding), and Fukami K. Obesity exacerbates imiquimod-induced psoriasis-like epidermal hyperplasia and interleukin-17 and interleukin-22 production in mice. *Exp. Dermatol.* 24, 436-442 (2015) 査読有り
doi: 10.1111/exd.12691.
- 5 Nakamura Y., Kanemaru K., Kojima R., Hashimoto Y., Marunouchi T., Oka N., Ogura T., Tanonaka K., and Fukami K.

Simultaneous loss of phospholipase C δ 1 and phospholipase C δ 3 causes cardiomyocyte apoptosis and cardiomyopathy. *Cell Death Dis.* 5, e1215 (2014) 査読有り
doi: 10.1038/cddis.2014.181.

〔学会発表〕(計 14 件)

1. Fukuyama T., Toyoda C., Nakamura Y., Fukami K., Loss of epidermal PLC γ 1 sebaceous gland hyperplasia and sparse hair, 第 41 回日本研究皮膚科学会、2016/12、仙台
2. 中村由和、ホスホリパーゼ C δ の生理機能解析、第 89 回日本生化学会、2016/9、仙台
3. 庄司麻土香、十時謙伍、中村由和、中南秀将、中瀬恵亮、野口雅久、深見希代子、黄色ブドウ球菌分泌物がケラチノサイトのバリアおよび炎症関連遺伝子に与える影響の解析、第 89 回日本生化学会、2016/9、仙台
4. Nakamura Y., Kanemaru K., Fukami K. Phospholipase C δ 1 regulates epidermal barrier formation. 57th International Conference on the Bioscience of Lipids, 2016/9, France
5. 十時謙伍、金丸佳織、中村由和、深見希代子、ケラチノサイトの細胞内 Ca²⁺濃度上昇、表皮バリア形成におけるホスホリパーゼ C δ 1 の役割、第 58 回日本脂質生化学会、2016/6、秋田
6. 福山堯嗣、豊田千穂、Suh Pann-Ghill、中村由和、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 は正常な皮脂腺形成に必要である、第 68 回日本細胞生物学会大会、2016/6、京都
7. 中村由和、金丸佳織、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 は正常な皮膚バリアの形成に必要である、第 88 回日本生化学会、2015/12、神戸
8. 白鳥可奈子、小倉嵩寛、中村由和、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 欠損によ

- る刺激性接触皮膚炎抑制機構の解明、第 88 回日本生化学会、2015/12、神戸
9. 六笠千愛、庄司麻土香、金丸佳織、中村由和、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 はケラチノサイトにおけるフィラグリン分解酵素の発現に必要である、第 67 回日本細胞生物学会大会、2015/6、東京
 10. 中村由和、金丸佳織、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 の減少は p38MAPK の過剰活性化を介し表皮バリア機能を低下させる、第 57 回日本脂質生化学会、2015/5、東京
 11. Kanemaru K., Nakamura Y., Fukami K., Loss of phospholipase C δ 1 impairs keratinocyte differentiation and epidermal barrier, 第 39 回研究皮膚科学会、2014/12、大阪
 12. 小倉崇寛、金丸佳織、中村由和、深見希代子、ケラチノサイトにおけるホスホリパーゼ C δ 1 の減少は炎症性サイトカインの発現を低下させる、第 87 回日本生化学会大会、2014/10、京都
 13. 金丸佳織、中村由和、深見希代子、ホスホリパーゼ C δ 1 の欠損は炎症性皮膚疾患を誘導する、第 87 回日本生化学会大会、2014/10、京都
 14. 中村由和、金丸佳織、深見希代子、PLC δ 1 と PLC δ 3 は心筋細胞の生存に関与し正常な心機能維持に必須である、第 56 回脂質生化学会、2014/6、大阪

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
東京薬科大学生命科学部ゲノム病態医科学研究室
<http://toyaku-ls-genome.com>

東京薬科大学プレスリリース「皮膚バリアの正常な働きに必要な脂質代謝酵素を発見 ～

皮膚疾患の新たな治療法開発に期待～」
2017 年 4 月 24 日

マイナビニュース「東京薬科大学、皮膚バリアの正常な働きに必要な脂質代謝酵素を発見」2017 年 4 月 26 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 由和 (NAKAMURA, Yoshikazu)
東京薬科大学・生命科学部・ゲノム病態
医科学研究室・講師
研究者番号：60366416

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

中西 広樹 (NAKANISHI, Hiroki)