

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08287

研究課題名(和文)炎症性皮膚疾患におけるヒアルロン酸バイオロジーの解析と創薬基盤強化の新機軸の探求

研究課題名(英文) Analysis of Hyaluronan Biology in Inflammatory Skin Diseases and the Search for New Opportunities to Strengthen the Foundation for Drug Discovery

研究代表者

水芦 政人 (Mizuashi, Masato)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：20400369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：接触皮膚炎発症時には海綿状態という病理学的特徴を形成することが知られているがどのような機序で形成され、またその意義について明らかになっていない。ヒアルロン酸が表皮にて多く形成されていることが知られているため、ヒアルロン酸を合成する酵素であるヒアルロン酸合成酵素(HAS)に着目し研究を行った。HASにはHAS1,2,3が存在し、我々の過去の研究からHAS3が重要と考え、HAS3遺伝子欠損マウスを使用し、接触皮膚炎モデルを行ったところ急性期にて皮膚の厚みの減弱がみられ、表皮でのヒアルロン酸合成が低下することを見出した。このことから接触皮膚炎の形成にHAS3が重要な役割を果たしていることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の研究結果からヒアルロン酸合成が接触皮膚炎の形成に必要なことが判明し、ヒアルロン酸によって接触皮膚炎が制御できる可能性が判明した。我々の仮説が正しければ、今回の結果はヒアルロン酸バイオロジーを利用した炎症性皮膚疾患治療の基盤となる。今後は、超低分子ヒアルロン酸を塗布することで実際に接触皮膚炎の炎症反応が抑制できるのかについて検討し社会還元に向けて進めていく。

研究成果の概要(英文)：Allergic contact dermatitis is known to form a pathological feature called spongiosis, but the mechanism of its formation and its significance have not been clarified. Since it is known that hyaluronan is formed predominantly in the epidermis, we focused on hyaluronan synthase (HAS), an enzyme that synthesizes hyaluronan. In the contact dermatitis model, we found that the thickness of the skin decreased, and hyaluronan synthesis in the epidermis was reduced in the acute phase. We found that HAS3 plays an important role in the formation of allergic contact dermatitis.

研究分野：皮膚免疫

キーワード：接触皮膚炎 ヒアルロン酸

1. 研究開始当初の背景

接触皮膚炎を代表とする湿疹性病変において、組織学的に海綿状態が形成されることは古くから知られていたが、今現在もなお海綿状態形成機序およびその機能は解明されていない。我々は接触皮膚炎病態形成機序の解析の中で、海綿状態においては IL-4、IL-13、IFN- γ などの炎症性サイトカイン刺激を受けた表皮細胞が HAS3 を誘導し、細胞外に積極的に HA を分泌していることを見いだした。同時に、表皮細胞は E-cadherin 発現を減弱させ細胞間の接着を緩めていることを明らかにした(Ohtani et al. J Invest Dermatol, 2009)。

このことは、海綿状態が E-cadherin 発現減弱により緩やかになった表皮細胞間結合を利用し、表皮細胞が産生する HA の分子特性により表皮細胞間に積極的に水を取り込み、経表皮的に侵入してくる外来抗原やハプテンを稀釈する生体防御反応であること示唆している(図1, 図2)。しかしながら、これまでの我々の研究は生体外試料や *in vitro* での観察研究であるため、我々の仮説が生体内においても生じている事象なのか、また、海綿状態が生体においてどのような機能を果たしているかについては明らかになっていない。

図1 海綿状態におけるヒアルロン酸の表皮内沈着

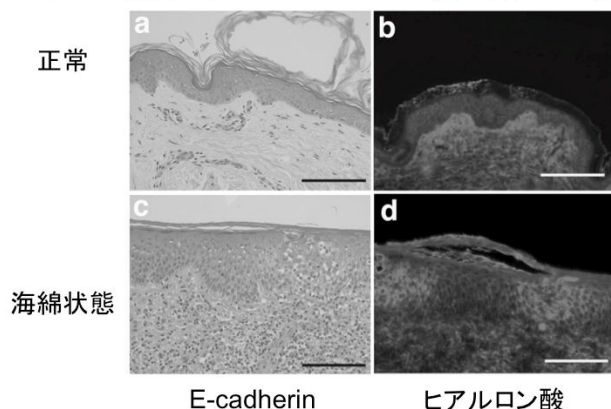
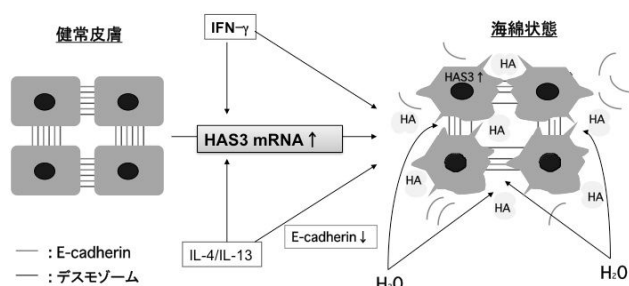


図2 海綿状態の形成機序



2. 研究の目的

我々が報告した海綿状態形成における HAS3 の関与は、その後 Barnes らにより追試、確認されたが (Barnes et al. J Invest Dermatol, 2012) いまだ認知度は低い。したがって、HA を標的としたアトピー性皮膚炎など湿疹性病変の病態形成機序の研究や治療法の開発の報告は存在しない。本研究は、遺伝子欠損マウスを用いて我々の観察的研究結果を検証するとともに、接触皮膚炎惹起反応における HA 合成の種を超えた普遍性ならびに重要性を明らかにしようとする研究である。本研究においては、接触皮膚炎ならびにアトピー性皮膚炎の海綿状態形成における HA の関与そして役割の一端を明らかにする。

本研究により接触皮膚炎、アトピー性皮膚炎において、HA が化学物質や環境抗原から表皮を保護する生理的機能を有していることが明らかになれば、HAS 遺伝子の発現を増強する薬剤がこ

れら疾患の新たな治療薬になる可能性があり、また、これらの遺伝子を抑制する薬剤はその使用に対する注意を喚起することができる。さらに、角層を透過できる分子量 5000 の超低分子ヒアルロン酸 (マイクロヒアルロン酸) による接触皮膚炎、アトピー性皮膚炎治療薬としての可能性も明らかとなる。

3. 研究の方法

(1) 炎症性皮膚疾患モデルの応用

HAS3 遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスに対して、マウスにおける接触皮膚炎、アトピー性皮膚炎モデルを組み合わせることで皮膚における HAS3 の役割を明らかにする。さらに病理学的変化、炎症性サイトカイン遺伝子の発現差を定量 RT-PCR やウエスタンブロットティング、ELISA 法を用いて観察する。

(2) 炎症性皮膚疾患時のHA量の測定

(1)の実験において、接触皮膚炎およびアトピー性皮膚炎様の炎症反応を惹起した表皮および真皮における HA 量を測定することで、マウスモデルとヒト患者との間の相同性を確認する。

(3) 表皮におけるHAS3の機能解析

(1)の予備実験において、HA 産生量の差異が表皮にどう影響するかを検討する。In vivo で炎症惹起後に皮膚より表皮細胞を単離し、遺伝子発現解析や FACS にて機能解析を行う。また、未処理マウスからの表皮細胞もしくはヒト表皮細胞を培養し、種々のサイトカインに対する反応を検討し解析を行う。

4. 研究成果

接触皮膚炎発症時には海綿状態という病理学的特徴を形成することが知られているがどのような機序で形成され、またその意義について明らかになっていない。ヒアルロン酸が表皮にて多く形成されていることが知られているため、ヒアルロン酸を合成する酵素であるヒアルロン酸合成酵素(HAS)に着目し研究を行った。HAS には HAS1,2,3 が存在し、我々の過去の研究から HAS3 が重要と考え、HAS3 遺伝子欠損マウスを使用し、接触皮膚炎モデルを行ったところ急性期にて皮膚の厚みの減弱がみられ、表皮でのヒアルロン酸合成が低下することを見出した。このことから接触皮膚炎の形成に HAS3 が重要な役割を果たしていることが判明した。現在、この成果について論文投稿準備中である。また、本研究のなかで表皮での HAS2 遺伝子も接触皮膚炎に重要な役割を果たしていることが判明したため、HAS3 遺伝子欠損マウスと表皮特異的 HAS2 遺伝子欠損マウスを作成し、接触皮膚炎に関わるヒアルロン酸の役割を更に解析している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kohei Otsuki
2. 発表標題 Three hyaluronic acid synthases differently regulate epidermal and dermal hyaluronan production in murine contact hypersensitivity model.
3. 学会等名 International Investigative Dermatology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浅野 雅之 (Asano Masayuki) (40755302)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	相場 節也 (Aiba Setsuya) (80159269)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究分担者	木村 裕 (Kimura Yutaka) (90375056)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------