

平成 30 年 8 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06375

研究課題名(和文)皮膚粗鬆症における表皮内コルチゾール再活性化酵素(11 β -HSD1)の役割研究課題名(英文)The role of 11 β -ta-HSD1 in Dermatorporosis

研究代表者

越智 沙織(Saori, Ochi)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00597495

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：培養表皮角化細胞に、ステロイドを添加24時間後・48時間後に、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1の発現が増強した。長期ステロイド添加で11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1の発現が減弱した。また、野生型マウスにおいて、加齢あるいはステロイドを連日外用したマウスは皮膚萎縮が生じ、表皮の11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1の発現が増強した。

研究成果の概要(英文)：The mRNA expression of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1(11 β -HSD1) increased at 24 and 48 hours after steroid treatment. Otherwise, the mRNA expression of 11 β -HSD1 decreased at long time after steroid treatment.

Aged mice or steroid treated-mice were epidermal atrophy and the expression of 11 β -HSD1 increased in keratinocytes.

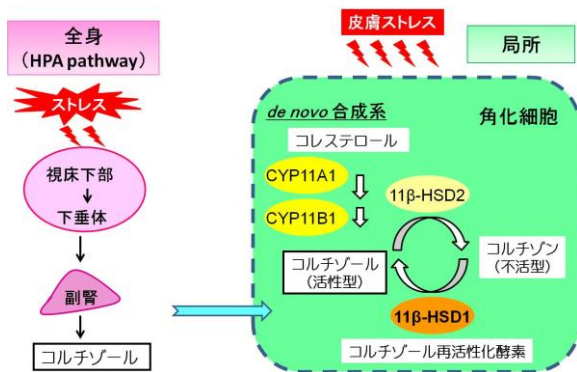
研究分野：dermatology

キーワード：11 β -HSD1 skin mouse cortisol dermatoporosis

1. 研究開始当初の背景

全身と局所におけるコルチゾールの合成について、全身のコルチゾールは身体的・精神的ストレス時、視床下部・下垂体・副腎で作られる。近年、局所でのコルチゾール制御機構が明らかになり、血清中のコルチゾールが細胞内のコルチゾール濃度を反映しないことがわかってきた。ケラチノサイトにおいて、細胞内のコルチゾールを活性化させる酵素 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1(11 β -HSD1)と不活化させる 11 β -HSD2 や、*De Novo* 合成系の酵素である CYP11A1 や CYP11B1 をもっていることを報告した(Terao M et al. PLoS One. 2011 Sep;6(9):e25039) (J Biol Chem. 2011, 25;286(12):10265-75)。申請者らの検討結果によりケラチノサイトのコルチゾール産生は副腎で産生されるコルチゾールに加え、*De Novo* の合成系と 11 β -HSD の酵素のバランスにより決定されると考えられ、加齢・皮膚のストレスなどに応じてその産生が変化しているのではないかと推測される(図)。

【図】局所コルチゾール制御機構



申請者らは、マウスの皮膚組織で 11 β -HSD1 を発現し、加齢により上昇すること (Terao M, Itoi S, Katayama I et al. Plos One.2014)、表皮・真皮の細胞増殖や創傷治癒を負に制御していることを報告した (Terao M, Katayama I et al. Plos One.2011)。さらに、ケラチノサイトでは炎症性サイトカイン、ハプテンや紫外線などの刺激により 11 β -HSD1 が誘導され、培養ケラチノサイトにおける炎症応答は、コルチゾールの濃度依存性に抗炎症、向炎症へ変化することを見出した(Itoi S, Terao M, Katayama I et al. Biochem Biophys Res Commun 2013)。これらの結果より表皮角化細胞における 11 β -HSD1 は細胞内コルチゾール濃度を調整することにより皮膚の老化や、初期の炎症を制御し、皮膚の恒常性維持に関与していることが推測される。

2. 研究の目的

今回、申請者らはグルココルチコイドによる皮膚萎縮と生理的老化の類似性に着目

した。グルココルチコイド剤は抗炎症作用として内服、外用薬として頻用される薬剤である。しかし、長期使用により、皮膚の萎縮、脆弱化、易感染性、創傷治癒遅延が引き起こされる。また、皮膚老化も肉眼的に皺、たるみ、乾燥が生じ、皮膚が脆弱となるため、軽微な外傷や摩擦で頻回に皮下出血、皮膚裂創が形成される。機能的には創傷治癒遅延、易感染性などみられる。近年、これら上記の現象は Dermatoporosis (皮膚粗鬆症)と提唱されている (Kaya G et al. Dermatology.2007)。軽微な外傷や摩擦から皮下出血、裂創が多発し、慢性化してくると創部の広範囲な血腫、細菌感染など重症化し、治療に難渋するケースも多い。よって、創傷治癒の外用剤だけでなく、皮膚萎縮を改善させる外用剤の開発が望まれる。申請者らは、老化やグルココルチコイドによって萎縮、脆弱化した皮膚を皮膚局所のコルチゾールの濃度を調節する事によって改善させようと考えた。コルチゾール活性化酵素 (11 β -HSD1) の阻害薬の開発は皮膚内のグルココルチコイドの産生を抑制し、Dermatoporosis の治療に役立つと期待できる。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウスに、ステロイド外用による皮膚萎縮を生じさせた時の皮膚の厚さ、バリア機能、11 β -HSD1 の発現を解析する。

野生型マウスの皮膚に連日ステロイド外用を行い、皮膚萎縮を誘発し、皮膚の厚さを測定する。皮膚萎縮部位の 11 β -HSD1 の発現の変化を健常皮膚と比較して RT-PCR、Western blotting、免疫染色で解析する。野生型マウスの高齢・若年マウスの比較解析を行う。両者の表皮における 11 β -HSD1 の発現の変化を RT-PCR、Western blotting、免疫染色で解析する。また、表皮の厚さを測定する。

(2) 野生型マウスの皮膚に連日ステロイド外用を行い、皮膚萎縮を誘発し、皮膚の厚さを測定する。皮膚萎縮部位の 11 β -HSD1 の発現の変化を健常皮膚と比較して RT-PCR、Western blotting、免疫染色で解析する。野生型マウスの高齢・若年マウスの比較解析を行う。両者の表皮における 11 β -HSD1 の発現の変化を RT-PCR、Western blotting、免疫染色で解析する。また、表皮の厚さを測定する。

(3) 表皮型 11 β -HSD1 欠損マウス、野生型マウスにステロイド外用を行い、皮膚萎縮を誘発し、ノックアウトマウスにおける皮膚萎縮の程度を野生型マウスと比較検討する。

(4) 培養表皮角化細胞を用いてステロイ

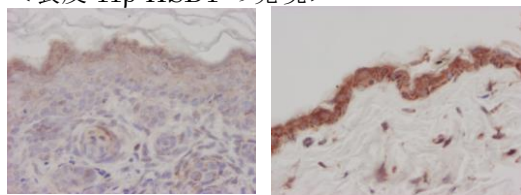
ド添加後の 11 β -HSD1 の発現を検討する。
 (5) 11 β -HSD-1 阻害薬をマウスの表皮に外用して、その厚さと増殖能を検討する。

4. 研究成果

(1) 野生型マウスにおいて、ステロイドを連日外用したマウスは皮膚萎縮が生じ、表皮の 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の発現が増強した。

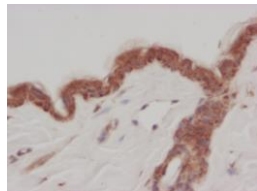
(2) 野生型マウスにおいて、加齢マウスは皮膚萎縮が生じ、表皮の 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の発現が増強した。

<表皮 11 β -HSD1 の発現>



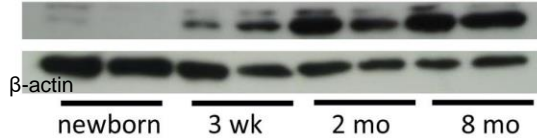
Newborn

3 months



1 year

11 β -HSD1

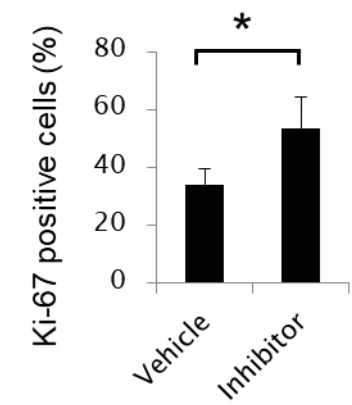
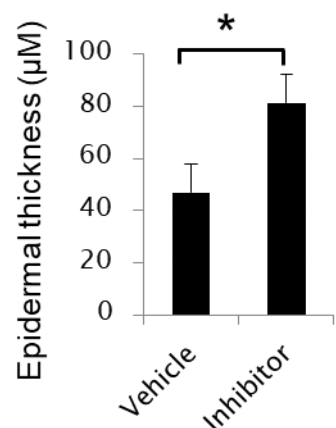
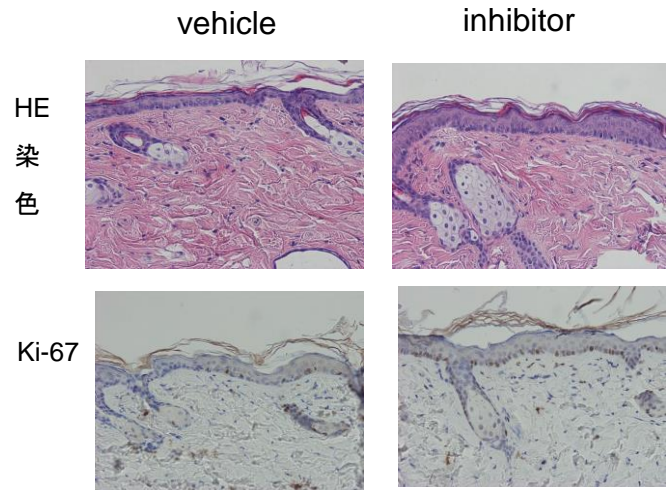


(3) Dermatorporosis における 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の役割を明らかにするには、生体内における解析が重要であり本研究では申請者らが最近作成した。まず、K5Cre^{+/+}11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 flox/flox マウスと、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 flox/flox を交配させ、表皮特異的 11 β hydroxysteroid dehydrogenase 1 マウスが作製できた。表皮特異的 11 β hydroxysteroid dehydrogenase 1 マウスと野生型マウスのステロイド外用後の差はばらつきが大きく、有意差は認めなかった。今回の実験では表皮特異的マウスの作製に時間がかかり、何度も検証実験ができなかった。今後、マウスを交配させ、匹数を増やして検討したい。

(4) 培養表皮角化細胞に、ステロイドを添加 24 時間後・48 時間後に、11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の発現が増強し、長期ステロイド添加で 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の発現が減弱した。コルチゾール活性化酵素である 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 の

発現増強によって、表皮角化細胞における内因性コルチゾールも増加することが示唆される。

(5) 11 β -HSD-1 阻害薬をマウスの表皮に外用して、その厚さと増殖能を検討したところ、11 β -HSD-1 阻害薬の外用マウスでは表皮が肥厚し、増殖期の細胞で染色される Ki 67 陽性細胞が増加した。



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0件)

〔学会発表〕(計1件)

皮膚老化・皮膚炎症における細胞内コルチゾール再活性化酵素(11 β -HSD1)の役割の検討

越智沙織

加齢皮膚科研究会、名古屋、2015.9.7

〔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

越智 沙織 (OCHI, Saori)

大阪大学医学系研究科皮膚科学教室・助教

研究者番号: 00597495

(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

()