

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09848

研究課題名（和文）HMGB1およびLL37含有軟膏による糖尿病性足病変（潰瘍）に対する治療薬の開発

研究課題名（英文）HMGB1 and LL37-containing ointments for the treatment of diabetic foot lesions (ulcers)

研究代表者

戸澤 麻美 (Tozawa, Asami)

愛媛大学・医学部附属病院・助教（病院教員）

研究者番号：70635531

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）：HMGB1およびLL37含有軟膏による糖尿病性足病変（潰瘍）に対する治療薬の開発を目指した。正常皮膚角化細胞を用いた単層培養細胞、三次元培養表皮に対し皮膚科領域細菌群による創傷遅延モデルを作成し、LL37など抗菌ペプチド群、HBGB1、HMGB1-ABoxを各々で構築したシステムに作用させ、創傷治癒の改善について評価した。次に糖尿病マウスおよびTLR3ノックアウトマウスの背部に作成した潰瘍に、皮膚抗菌ペプチドおよびHMGB1含有軟膏を数種類作成して塗布し、創傷治癒を比較検討した。コントロールとLL37単独が14日目に上皮化し、HMGB1群を含む軟膏の創傷治癒が優れているとはいえなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者の0.3%は足潰瘍病変をもち、一旦足潰瘍を発症した場合には難治性である。糖尿病患者の発汗低下からLL37などの抗菌ペプチドの低下により表皮角化細胞の免疫機能低下が原因であることを示し、現存する軟膏とは全く違う面からの創傷治癒を促進する軟膏を開発する予定であった。HMGB1の効果は証明できていないが、LL37は創傷治癒に関して改良すれば効果がある軟膏が作れる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a therapeutic agent for diabetic foot lesions (ulcers) with ointments containing HMGB1 and LL37. First, a wound-delayed model was created using (1) monolayer cultures of normal skin keratinocytes and three-dimensional epidermal cultures of dermatological bacterial colonies. Then, antimicrobial peptides expressed in skin such as LL37, HBGB1, and HMGB1-ABox were applied to the system constructed in (1), and the improvement of wound delay and the induction and suppression of inflammatory cytokines were evaluated. Next, several ointments containing skin antimicrobial peptides and HMGB1 were applied to ulcers created on the backs of diabetic and TLR3 knockout mice, and the inflammatory response to these ointments was compared. Control and LL37 alone were epithelialized on day 14, and the ointments containing the HMGB1 group did not show superior wound healing.

研究分野：創傷治癒

キーワード：HMGB1 創傷治癒 糖尿病 LL37 抗菌ペプチド

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

遷延性皮膚潰瘍の中でも糖尿病足病変は糖尿病患者の2.2~5.9%に発生する合併症の一つであり、再発率が高く、7-20%が下肢切断に至る。足趾潰瘍の発生原因としては神経障害と血流障害が関与しているとされるが、その詳細なメカニズムや創傷治癒遅延の原因、皮膚バリア機能と易感染性の関連についてなどいまだ不明な点も多い。我々は、発汗低下による皮膚抗菌ペプチドの低下が原因と考えた。

2. 研究の目的

近年、糖尿病患者の創傷治癒遅延の原因の一つとして、核内タンパクであるHMGB1(High mobility group box 1)と、皮膚抗菌ペプチドの一つであるCathelicidin(LL37)が減少していることが報告されている。我々は表皮角化細胞の研究において、この2つの物質が密接に関わっていることを独自に発見しており、病原菌増殖抑制効果(LL37)と創傷治癒促進効果(HMGB1)の両者を保持した糖尿病足病変に対する新しい軟膏の開発を試みた。



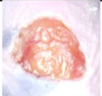




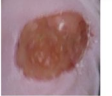






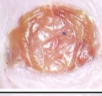









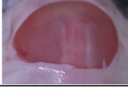





3. 研究の方法

正常ヒト角化細胞を用いた単層培養細胞、三次元培養表皮(Living skin equivalent; LSE)に対し皮膚科領域細菌群(e.g., Group B Streptococcus, Group A streptococcus, S aureus, MRSA)による創傷遅延モデルの作製を試みた。LL37, Dermocidinをはじめとした皮膚に発現する抗菌ペプチド群、HMGB1群(HMGB1、還元型HMGB1、HMGB1 A-box)を各々で構築されたシステムに単独または複合して作用させ、これらによる創傷遅延の改善と炎症性サイトカインの誘導または抑制につき評価検討を行った。また、LSEによる各層におけるHMGB1群、抗菌ペプチド群の発現を免疫蛍光染色、qRT-PCRを用いて観察した。

次に、糖尿病マウスおよびTLR3ノックアウトマウスの背部に皮膚潰瘍を形成した。その後、皮膚抗菌ペプチド群およびHMGB1群を単独または複合して作用させ、潰瘍の改善または拡大を評価検討した。

4. 研究成果

Ctrl PBS 30 μ l HMGB2 10 μ l+PBS20 μ l、 LL37(1mM)10 μ l+PBS20 μ l HBGB1 10 μ l
+LL37(1mM)10 μ l + PBS10 μ l HMGB1 10 μ l + LL37 (1mM) 20 μ l HBGB1 20 μ l
+LL37 (1mM)10 μ l をパッチテスターにしみこませて背部潰瘍に貼付し、テガダームで固定して創傷治癒を観察した。Ctrl と LL37 単独が 14 日目に上皮化した。HMGB1 を含めた軟膏が創傷治癒を促進するとはいえなかった。

	1日目	3日目	5日目	7日目	10日目	14日目
1						
2						
3						
4						
6						

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	村上 正基 (Murakami Masamoto) (20278302)	愛媛大学・医学系研究科・特任教授 (16301)	
研究分担者	森 秀樹 (Mori Hideki) (60325389)	愛媛大学・医学系研究科・講師 (16301)	

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