

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ソロタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域
(英語) Advanced Research & Development Programs for Medical Innovation, Solo-type, “Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies”
- 研究開発課題名： (日本語) ポリホスホイノシタイド代謝異常による疾患発症機構の理解および病態改善
(英語) Understanding and improvement of diseases caused by aberrant polyphosphoinositide metabolism
- 研究開発担当者 (日本語) 学校法人東京薬科大学 生命科学部 講師 中村 由和
所属 役職 氏名： (英語) Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, School of Life Sciences, Lecturer, Yoshikazu Nakamura
- 実施期間： 平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

本研究開発の目的は皮膚細胞が産生する内因性のリン脂質代謝酵素と炎症性皮膚疾患病変部に存在する病原菌が分泌する外因性のリン脂質代謝酵素の両者に着目し、リン脂質代謝異常と炎症性皮膚疾患の関連を明らかにすることである。下記に平成 28 年度の研究開発の成果について記す。

1) Phospholipase C (PLC) 下流シグナルの正常化による表皮バリア機能改善

皮膚バリア機能の低下はアトピー性皮膚炎や乾癬などの皮膚疾患の発症や悪化に関与している。研究代表者らは先行研究において、細胞膜リン脂質 Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate を分解する酵素である Phospholipase C (PLC)δ1 が表皮で減少した際に皮膚バリア機能が低下することを明らかにしていた。平成 28 年度には PLCδ1 の減少が皮膚バリア機能を低下させる機構について解析を行い、PLCδ1 の減少は p38 MAPK の過剰活性化を介して皮膚バリア機能を低下させることを明らかにした。また、p38 MAPK の阻害剤を用いることにより皮膚バリア機能の改善や皮膚疾患モデルマウスの病態が改善できることも明らかにした（責任著者として *Cell Death Differ* に発表）。

2) 脂質代謝酵素が黄色ブドウ球菌の皮膚炎誘導能に与える影響の解明

黄色ブドウ球菌はアトピー性皮膚炎悪化因子であることが知られているが、黄色ブドウ球菌によるアトピー性皮膚炎悪化機構の詳細には不明点も多い。研究代表者らは先行研究において、本研究で解析対象としている脂質代謝酵素を黄色ブドウ球菌にて欠損させた際に、培養表皮細胞に対する病原性が低下することを明らかにしていた。平成 28 年度には、解析対象の脂質代謝酵素を欠損することにより黄色ブドウ球菌の皮膚炎誘導能に変化があるかについて検討を行なった。その結果、解析対象の脂質代謝酵素を欠損した黄色ブドウ球菌では感染により誘導される皮膚炎の症状が軽減されていることが明らかになった。

3) 黄色ブドウ球菌の脂質代謝酵素の機能を阻害するモノクローナル抗体の作製

本研究で解析対象としている脂質代謝酵素の活性を阻害可能なモノクローナル抗体を複数クローン得た。また解析対象の脂質代謝酵素の活性をハイスループットで検出可能な方法を確認し、得られたモノクローナル抗体の酵素活性阻害能について評価を行なった。

The purpose of this research is to clarify the link between disturbed phospholipid metabolism and inflammatory skin diseases by focusing on lipid-metabolizing enzymes in keratinocytes and pathogenic bacteria. We obtained the following results in FY2016.

1) Improvement of the epidermal barrier by normalizing downstream signals of phospholipase C (PLC)

Impaired function of the skin barrier contributes to pathogenesis of skin diseases including atopic dermatitis and psoriasis. We previously found that epidermal loss of PLC δ 1 impaired the skin barrier. In FY2016, we found that PLC δ 1 downregulation results in p38 MAPK hyperactivation, leading to skin barrier defects. In addition, inhibiting p38 MAPK restored normal skin barrier function and improved psoriasis-like skin inflammation in mice (*Cell Death Differ.* In press).

2) The role of lipid-metabolizing enzyme in development of skin inflammation by *Staphylococcus aureus*

Although *S. aureus* is an important aggravating factor of atopic dermatitis, detailed mechanisms by which *S. aureus* aggravates atopic dermatitis remain to be clarified. We previously found that loss of lipid-metabolizing enzyme X attenuated the virulence of *S. aureus* on keratinocytes. In FY2016, we found that loss of lipid-metabolizing enzyme X attenuated skin inflammation caused by *S. aureus* infection in mice.

3) Generation of an inhibitory monoclonal antibody against lipid-metabolizing enzyme X

We generated hybridoma cell lines producing inhibitory monoclonal antibodies against lipid-metabolizing enzyme X. We also developed a method for measuring the activity of enzyme X and evaluated the inhibitory activity of our monoclonal antibodies.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 2件）

1. Nakamura Y., and Fukami K. Regulation and physiological functions of mammalian phospholipase C. *J. Biochem.* 2017, 161, 315-321
2. 中村由和. 総説：ホスホリパーゼCの活性化機構と生理機能. 生化学. 2017, 89, 189-198
3. 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.* in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Loss of epidermal PLC γ 1 sebaceous gland hyperplasia and sparse hair, ポスター, Fukuyama T., Toyoda C., Nakamura Y., Fukami K., 2016/12/9~11, 第41回日本研究皮膚科学会, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
特にありません。

(4) 特許出願