慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	皮膚炎発症の抑制に関わる脂肪酸代謝物の探索と分子メカニズムの解析
Sub Title	Lipidomics of fatty acid metabolites involved in resolution of skin inflammation
Author	永沼, 達郎(Naganuma, Tatsuro)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では, 皮膚の炎症抑制に関わる脂肪酸代謝物の発見を目指しており, 本年度は接触性皮膚炎モデルマウスにおける脂肪酸代謝物の解析を行った。また, ヒトケラチノサイトでの効果検証のため, ヒトケラチノサイトの3次元培養系の構築を目指した。 【接触性皮膚炎モデルマウスにおける脂肪酸代謝物の解析】 接触性皮膚炎モデルとして, ジニトロフルオロベンゼン(DNFB)誘導性接触性皮膚炎モデルを用いた。まずはDNFBモデルにおいて, 皮膚炎を惹起してから回復するまで継時的にサンプリングを行い, LC-MS/MSにより脂肪酸代謝物を網羅的に解析した。その結果, エイコサノイド類を含む多くの脂肪酸代謝物が炎症のピーク時に上昇するのに対し, 8位にヒドロキシ基を有するアラキドン酸代謝物である8-HETE, エイコサペンタエン酸代謝物8-HEPEや, 10位にヒドロキシ基を有するDHA代謝物である10-HDHAは, 炎症のピークが過ぎてから, 炎症収束期に上昇することが明らかとなった。このことから, 8-HETEや8-HEPE, 10-HDHAは炎症収束作用を持つ可能性を考え, DNFBモデルにおいてこれらの脂肪酸代謝物を炎症惹起前に投与し, 抗炎症効果を検証した。その結果, 8-HEPEの投与により皮膚炎が抑制されることを見出した。8-HEPEは未だ皮膚における生理的意義が知られていなかった脂肪酸代謝物であり, 本研究においてはじめて皮膚の炎症抑制作用を見出した。8-HEPEは生合成酵素が未同定であるが, アラキドン酸の8位をヒドロキシ化する酵素としてAlox8が知られていることから, 同様にEPAを基質として8-HEPEを合成する可能性があり, その検証が今後求められる。また, Alox8は皮膚特異的なリポキシゲナーゼであるものの, その皮膚における生理的意義は未解明であり, 本研究の発展によりその解明および新規機能性脂質の発見が期待できる。 【ケラチノサイトの3次元培養系の構築】 ヒトケラチノサイトの3次元培養モデルの構築については, 3次元培養を試みたが, 細胞の積層状態が悪く, 表皮を模すことができなかった。培養に用いるインサートの種類や培地の条件, 細胞の数や種類等, 様々な角度から検討を進めている。 In this study, I analyzed fatty acid metabolites by LC-MS/MS in the mouse model of contact dermatitis to discover the new lipid mediators involved in the resolution of skin inflammation. In addition, I tried to 3D-culture of human primary keratinocytes to evaluate the effectiveness of candidate mediators in human cell. 【Lipidomics of fatty acid metabolites in contact dermatitis model mice】 As a mouse model of contact dermatitis, I used dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis model. I subjected LC-MS/MS based lipidomics targeting the fatty acid metabolites in this model. As a result, various fatty acid metabolites including eicosanoids were increased at the peak of inflammation. On the other hand, the levels of 8-HETE, 8-HEPE and 10-HDHA, the hydroxylated metabolites derived from arachidonic acid, EPA or DHA, were increased in the resolution phase of dermatitis. Moreover, I found that administration of 8-HEPE before DNFB treatment suppressed the induction of contact dermatitis. Thus, 8-HEPE could be a new candidate of anti-inflammatory agent. As the future works, identification of the enzyme which can generate the 8-HEPE and investigation of the molecular machinery of anti-inflammatory effect of 8-HEPE were required to unveil the physiological role of 8-HEPE in the skin inflammation. 【3D-culture of human primary keratinocyte】 I tried to 3D-culture of human primary keratinocyte according to the manufacturing instruction. However, keratinocytes were not form the layered structure very well. More considerations about the inserts, medium, the number of keratinocytes and so on are required.
Notes	
Genre	Research Paper

URL https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170228

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2018 年 4 月 10 日

2017 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	助教	補助額	500 （特B）千円
	氏名	永沼 達郎	氏名（英語）	Tatsuro Naganuma		

研究課題（日本語）

皮膚炎発症の抑制に関わる脂肪酸代謝物の探索と分子メカニズムの解析

研究課題（英訳）

Lipidomics of fatty acid metabolites involved in resolution of skin inflammation

１．研究成果実績の概要

本研究では，皮膚の炎症抑制に関わる脂肪酸代謝物の発見を目指しており，本年度は接触性皮膚炎モデルマウスにおける脂肪酸代謝物の解析を行った。また，ヒトケラチノサイトでの効果検証のため，ヒトケラチノサイトの 3 次元培養系の構築を目指した。

【接触性皮膚炎モデルマウスにおける脂肪酸代謝物の解析】
接触性皮膚炎モデルとして，ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）誘導性接触性皮膚炎モデルを用いた。まずは DNFB モデルにおいて，皮膚炎を惹起してから回復するまで継時的にサンプリングを行い，LC-MS/MS により脂肪酸代謝物を網羅的に解析した。その結果，エイコサノイド類を含む多くの脂肪酸代謝物が炎症のピーク時に上昇するのに対し，8 位にヒドロキシ基を有するアラキドン酸代謝物である 8-HETE，エイコサペンタエン酸代謝物 8-HEPE や，10 位にヒドロキシ基を有する DHA 代謝物である 10-HDHA は，炎症のピークが過ぎてから，炎症収束期に上昇することが明らかとなった。このことから，8-HETE や 8-HEPE，10-HDHA は炎症収束作用を持つ可能性を考え，DNFB モデルにおいてこれらの脂肪酸代謝物を炎症惹起前に投与し，抗炎症効果を検証した。その結果，8-HEPE の投与により皮膚炎が抑制されることを見出した。8-HEPE は未だ皮膚における生理的意義が知られていなかった脂肪酸代謝物であり，本研究においてはじめて皮膚の炎症抑制作用を見出した。8-HEPE は生合成酵素が未同定であるが，アラキドン酸の 8 位をヒドロキシ化する酵素として Alox8 が知られていることから，同様に EPA を基質として 8-HEPE を合成する可能性があり，その検証が今後求められる。また，Alox8 は皮膚特異的なリポキシゲナーゼであるものの，その皮膚における生理的意義は未解明であり，本研究の発展によりその解明および新規機能性脂質の発見が期待できる。

【ケラチノサイトの 3 次元培養系の構築】
ヒトケラチノサイトの 3 次元培養モデルの構築については，3 次元培養を試みたが，細胞の積層状態が悪く，表皮を模すことができなかった。培養に用いるインサートの種類や培地の条件，細胞の数や種類等，様々な角度から検討を進めている。

２．研究成果実績の概要（英訳）

In this study, I analyzed fatty acid metabolites by LC-MS/MS in the mouse model of contact dermatitis to discover the new lipid mediators involved in the resolution of skin inflammation. In addition, I tried to 3D-culture of human primary keratinocytes to evaluate the effectiveness of candidate mediators in human cell.

【Lipidomics of fatty acid metabolites in contact dermatitis model mice】
As a mouse model of contact dermatitis, I used dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis model. I subjected LC-MS/MS based lipidomics targeting the fatty acid metabolites in this model. As a result, various fatty acid metabolites including eicosanoids were increased at the peak of inflammation. On the other hand, the levels of 8-HETE, 8-HEPE and 10-HDHA, the hydroxylated metabolites derived from arachidonic acid, EPA or DHA, were increased in the resolution phase of dermatitis. Moreover, I found that administration of 8-HEPE before DNFB treatment suppressed the induction of contact dermatitis. Thus, 8-HEPE could be a new candidate of anti-inflammatory agent. As the future works, identification of the enzyme which can generate the 8-HEPE and investigation of the molecular machinery of anti-inflammatory effect of 8-HEPE were required to unveil the physiological role of 8-HEPE in the skin inflammation.

【3D-culture of human primary keratinocyte】
I tried to 3D-culture of human primary keratinocyte according to the manufacturing instruction. However, keratinocytes were not form the layered structure very well. More considerations about the inserts, medium, the number of keratinocytes and so on are required.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）
永沼達郎	脂肪酸クオリティと炎症・アレルギーの制御	炎症と免疫	2017 年 6 月