

博士論文審査の結果の要旨

氏名	中西 忍
学位名	博士（工学）
学位番号	乙 第 252 号
論文題目	皮膚表皮の花粉防御機構の解明と新皮膚表皮応答評価系の構築
論文審査委員	主査 保地 眞一 下坂 誠 高島 誠司 根岸 淳 秀 道広（広島大学病院）

（博士論文審査の結果の要旨）

本論文は、スギ花粉症による肌荒れとその発現ならびに修復に関する機構と、元素解析と異物応答に関する新しい皮膚表皮応答評価系構築に関する研究結果を取りまとめたものである。

第1章の序論では、身体の全表面を覆い、内部の諸器官を外部からの刺激・衝撃から保護する皮膚表皮の解剖学的・生理学的特徴を紹介している。皮膚は大きく表皮・真皮・皮下組織に分類され、その3層の中で最も薄い表皮が外界からのバリア機能において最も重要な働きを担っている。第2章では表皮バリア機能調節機構の解明と制御を目的として、日本産スギ (*Cryptomeria japonica*) 花粉の主要アレルゲンである Cry j1 の表皮への作用機序の解明を目指している。その結果、Cry j1 はセリンプロテアーゼの1種であるトロンピンを活性化するが、活性化されたトロンピンはGタンパク質共役受容体の Protease activated receptor-2 (PAR-2) ではなく PAR-1 という別の受容体を活性化し、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を誘発して表皮バリア機能低下を引き起こすことを明らかにした。また、トラネキサム酸には Cry j1 による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を抑制し、表皮バリア機能低下を抑制する効果があるとわかり、トラネキサム酸の新たな機能の発見にも繋がった。第3章では Cry j1 による表皮バリア機能低下に対する新たな薬剤を見つけることを目的として、トロンピン活性阻害剤のスクリーニングを行っている。その結果、還元型グルタチオンにトロンピン活性阻害効果、および Cry j1 による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇・表皮バリア機能低下の抑制効果を見出すことに成功した。第4章では、表皮バリア機能研究の発展を支える礎となる技術の開発を試みている。まず、皮膚内（部位別）における各種元素の分布パターン網羅的解析を行った。レーザーアブレーション ICP 質量分析を用いることで、特別な前処理を施すことなく皮膚凍結切片から網羅的に13種類の元素情報を取得する方法を確立し、うち4種類の元素 (Sr, Mo, I, Ba) については世界で初めて皮膚内定量に成功した。次に、機械的刺激に対する表皮応答評価モデルの構築を行った。棘やガラス片などの物理的・機械的な異物が皮膚内に侵入すると、それらが細胞毒性を示さなかったとしてもいずれ表皮から体外へと排出される。この異物排除という表皮バリア機能を解析するため、ハンギング・インサート上で12日間ケラチノサイトを培養する「3D表皮モデル」を開発した。これによりプラスチックビーズやPETメッシュのような異物を皮膚に埋め込んだときのケラチノサイトの応答が観察できるようになった。そして第5章では、スギ花粉症による肌荒れとその発現ならびに修復に関する機構の詳細を明らかにしたこと、トロンピン活性阻害剤のスクリーニングを通して還元型グルタチオンが表皮バリア機能低下の抑制効果を持つこと、そして元素解析と異物応答に関する新しい皮膚表皮応答評価系を構築したこと、を総括している。

皮膚は身体の全表面を覆い、内部の諸器官を外部からの刺激・衝撃から保護するとともに、独自の生理機能を持って外界と接している。本論文は、スギ花粉症による肌荒れとその発現ならびに修復に関する機構の詳細を明らかにしたもので、トロンピン活性阻害剤のスクリーニングを通して還元型グルタチオンが表皮バリア機能低下の抑制効果を持つことも見出した。さらに、元素解析と異物応答に関する新しい皮膚表皮応答評価系も提案しており、これらの技術が基礎から臨床までのあらゆる皮膚科学研究の発展に寄与するものと期待される。以上のことから、本論文は

学位論文として十分に認められるものと判断した。

(公表主要論文名)

1. Junichi Kumamoto, Shinobu Nakanishi, Yuki Umino, Mitsuhiro Denda. Removal of nontoxic foreign material to the surface by cultured human epidermal keratinocytes in an epidermal-equivalent model. *J Dermatol Sci* 第 89 卷 (1 号) 97 頁～99 頁 (2018 年 1 月発行に掲載)
2. Shinobu Nakanishi, Junichi Kumamoto, Mitsuhiro Denda. Tranexamic acid blocks the thrombin-mediated delay of epidermal permeability barrier recovery induced by the cedar pollen allergen, Cry j1. *Sci Rep* 第 8 卷 (1 号) 15610 頁 (2018 年 10 月発行に掲載)
3. Shinobu Nakanishi, Kanna Kurihara, Mitsuhiro Denda. Glutathione counteracts the effects of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen allergen Cry j1. *Biol Pharm Bull* 第 43 卷 (10 号) 1591 頁～1594 頁 (2020 年 10 月発行に掲載)
4. Shinobu Nakanishi, Rie Kamezone, Masashi Nakatani, Mitsuhiro Denda. Comprehensive analysis of elemental distribution in human skin using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Skin Res Technol* 第 27 卷 (4 号) 576 頁～581 頁 (2021 年 7 月発行に掲載)