

「数学と諸分野の協働によるブレークスルーの探索」
平成22年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告

長山雅晴

金沢大学理工研究域数物科学系・教授

生理学と協働した数理科学による皮膚疾患機構の解明

§1. 研究実施体制

(1)「長山」グループ

① 研究代表者:長山 雅晴 (金沢大学理工研究域数物科学系、教授)

② 研究項目

- ・ 皮膚バリア機能数理モデルの構築
- ・ 基底細胞運動の数理モデルの構築
- ・ 細胞破壊による基底細胞運動の実験
- ・ 皮膚感覚機構の基礎モデル構築
- ・ 数値計算結果の可視化

(2)「傳田」グループ

① 主たる共同研究者:傳田 光洋 (株式会社資生堂リサーチセンター、主幹研究員)

② 研究項目

- ・ 神経細胞とケラチノサイトの共培養系の実験
- ・ 二光子顕微鏡による3次元皮膚モデル内Ca動態の研究
- ・ アノジン受容体など表皮内Ca動態に関するシステムの研究
- ・ 外部刺激に対する表皮、ケラチノサイトの応答に関する研究

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

1. 皮膚バリア機能数理モデルの構築

今後の皮膚疾患モデルの基礎となる皮膚構造モデルを構築した(A-1). 現在の数理モデルを基盤として今後構築した数理モデルを組み込んでいく.

2. 細胞破壊による基底細胞運動の実験と基底細胞運動の数理モデルの構築

基底細胞の集団運動を記述する数理モデル構築のために, MDCK細胞と表皮細胞について創傷治癒実験を行った. その結果, MDCK細胞では細胞間を波が伝わる現象が見られたが, 表皮細胞ではそのような現象は観察されていない. 今年度は, MDCK細胞の波動現象を再現する数理モデルを構築した. 今後は, 少数の細胞運動を調べることで定量的な細胞運動モデルを構築していく.

3. 皮膚感覚機構の基礎モデル構築

今年度は, 表皮細胞から放出する誘因物質の濃度勾配によって抹消神経が伸張する現象を再現する抹消神経細胞の伸張モデルの作成を行った. 今後は, 伸張した末梢神経での電位伝播現象やカルシウムイオン伝播現象のモデル化を行い, 表皮細胞のカルシウム興奮による神経興奮モデルを構築する.

4. 数値計算結果の可視化

今年度は細胞形状を表現するための可視化モデルを構築した. その数理モデルを使って細胞表現するための可視化プログラムを構築中である. 来年度の前半にはプログラムを完成させ, これまでよりリアルな可視化を行う.

5. 神経細胞とケラチノサイトの共培養系の実験(B-1)

表皮における末梢神経線維の伸展, 構造形成を評価するため, シリコンゴムでできた2つのチャンバーを持つ容器に, ケラチノサイト, および後根神経節由来の神経細胞を播種し, その後の形態的变化を観察した. その結果, ケラチノサイト集合体への無髄神経繊維の伸展, およびその手前にシュワン細胞からなる網目上の構造が形成された(図1). 今後, 神経繊維の伸展を誘導する因子の探索, およびその定量系の構築を目指す.

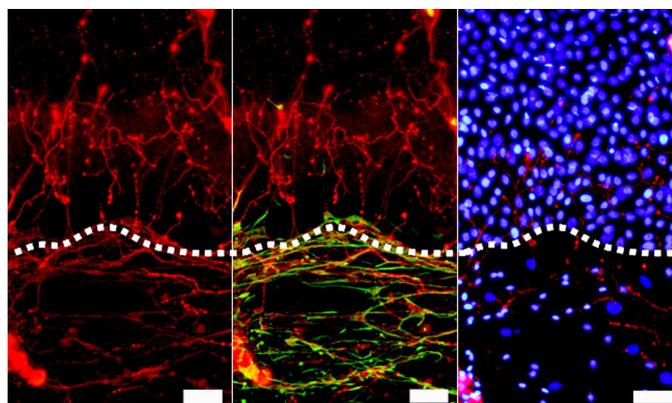


図1 神経繊維分布 シュワン細胞による構造(緑) 細胞核染色

(点線より上はケラチノサイト分布)

6. 二光子顕微鏡による3次元皮膚モデル内Ca動態の研究

表皮組織内のカルシウム動態を観察する目的で、二光子レーザー顕微鏡を導入し、3次元皮膚モデルにおける表皮内カルシウム観察の方法論の確立を目指した。その結果、基底層から顆粒層に至るカルシウム分布の撮影が可能になった。今後は外部からの刺激に対する表皮内カルシウム応答の時間変化を観察する方法の確立を目指す。

7. リアノジン受容体など表皮内Ca動態に関与するシステムの研究(B-4)

表皮ケラチノサイトの内部にあるカルシウムを含む小胞体は、表皮におけるカルシウム動態制御に重要な役割を果たしている。そのメカニズムを探索するため、小胞体に発現してカルシウム流入に寄与しているタンパク質の発現を調べた。その結果、リアノジン受容体の表皮ケラチノサイトにおける発現を見出した(図2)。さらにリアノジン受容体のアンタゴニスト、アゴニストが表皮バリア機能に作用することから、リアノジン受容体がバリア機能の維持に寄与していることが明らかになった。今後は表皮の加齢変化に関与するタンパク質を探索し、表皮老化の防止策の提案を目指す。

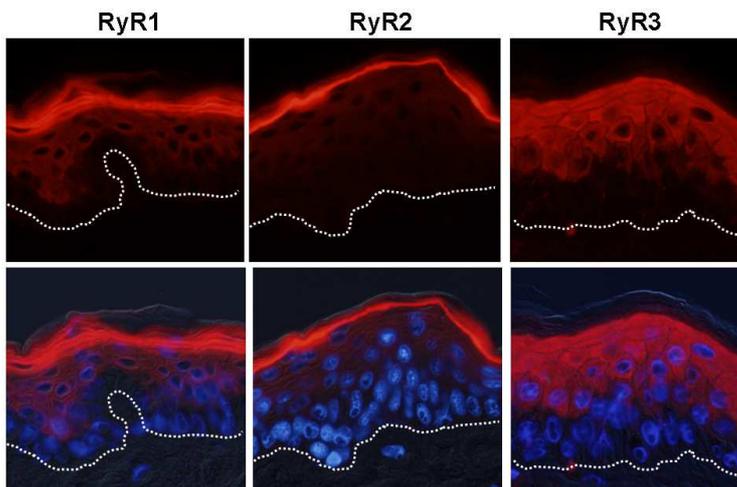


図2 表皮上層に発現しているリアノジン受容体

8. 外部刺激に対する表皮、ケラチノサイトの応答に関する研究(B-3, B-5)

ケラチノサイトが皮膚温度受容に寄与しているか否かを確認するため、温度上昇(30~50℃)におけるケラチノサイト内カルシウム応答を調べた。その結果、温度上昇に伴い、細胞内カルシウム濃度の上昇が観察され、ケラチノサイトに温度受容機構が存在することが示唆された。また、これまで脳下垂体で合成・放出されると考えられていたオキシトシンが表皮に存在することが確認され、オキシトシンは表皮ケラチノサイトのATP受容体を介した細胞内カルシウム濃度上昇によって放出されることが示唆された。今後は環境因子を受容して変化するケラチノサイトのカルシウム動態が、さらに全身や情動に及ぼすホルモンなどの放出に寄与する可能性を検証する。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

A-1. 長山雅晴, 坂井昭彦, 中田聡, 北畑裕之, 傳田光洋, “角層形成の数理モデル”, 計算工学講演会論文集, 16(2011).

B-1. Tsutsumi M, Goto M, Denda S, Denda M. Morphological and functional differences in co-culture system of keratinocytes and dorsal root ganglion-derived cells depending on time of seeding. *Exp Dermatol* 20:464-467, 2011 DOI:10.1111/j.1600-0625.2011.01276.

B-2. Kawai E., Kumazawa N, Ozawa K, Denda M. Skin surface electrical potential as an indicator of skin condition: Observation of surfactant-induced dry skin and middle-aged skin. *Exp Dermatol* 20: 757-759, 2011 DOI:10.1111/j.1600-0625.2011.01276.x

B-3. Tsutsumi M, Kumamoto J, Denda M. Intracellular calcium response to high temperature is similar in undifferentiated and differentiated cultured human keratinocytes. *Exp Dermatol* 20: 839-840, 2011 DOI:10.1111/j.1600-0625.2011.01318.x

B-4. Denda S, Kumamoto J, Takei K, Tsutsumi M, Aoki H, Denda M. Ryanodine receptors are expressed in epidermal keratinocytes and associated with keratinocyte differentiation and epidermal permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol* 132:69-75, 2012 Doi:10.1038/jid.2011.256

B-5. Denda, S, Takei K, Kumamoto J, Goto, M, Tsutsumi, M, Denda, M. Oxytocin is expressed in epidermal keratinocytes and released upon stimulation with adenosine 5'-[gamma-thio]triphosphate in vitro. *Exp Dermatol* 2012 in press

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 2件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 2件)