

加齢による皮膚細胞間バリア機能の低下改善に 向けた治療薬の開発



岐阜薬科大学
薬学部 生命薬学大講座 生化学研究室
教授 五十里 彰

2024年10月29日

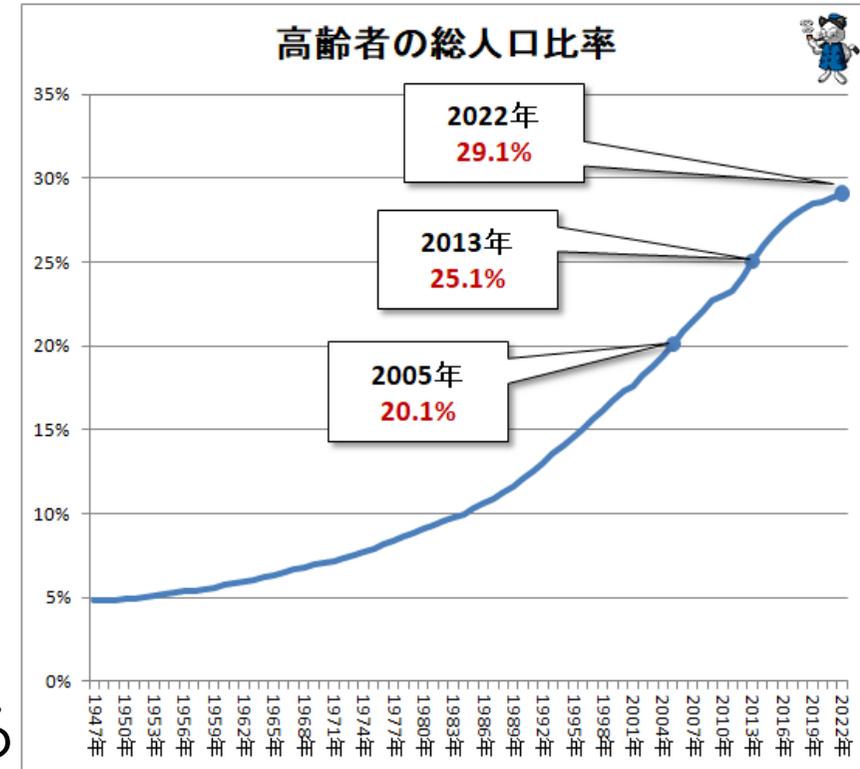
高齢者にみられる皮膚疾患

高齢者数： 3,600 万人（日本）
7億3,000万人（世界）

高齢者の90%以上が**乾皮症**を罹患している。
J. Dermatol. (2013)

老人性乾皮症とは？

- 60歳以上の高齢者にみられる
- 皮膚が乾燥し、角質層にひび割れができる



厚生労働省公表資料

命に関わる病気でないが、
QOLの低下が大きい。



痒み



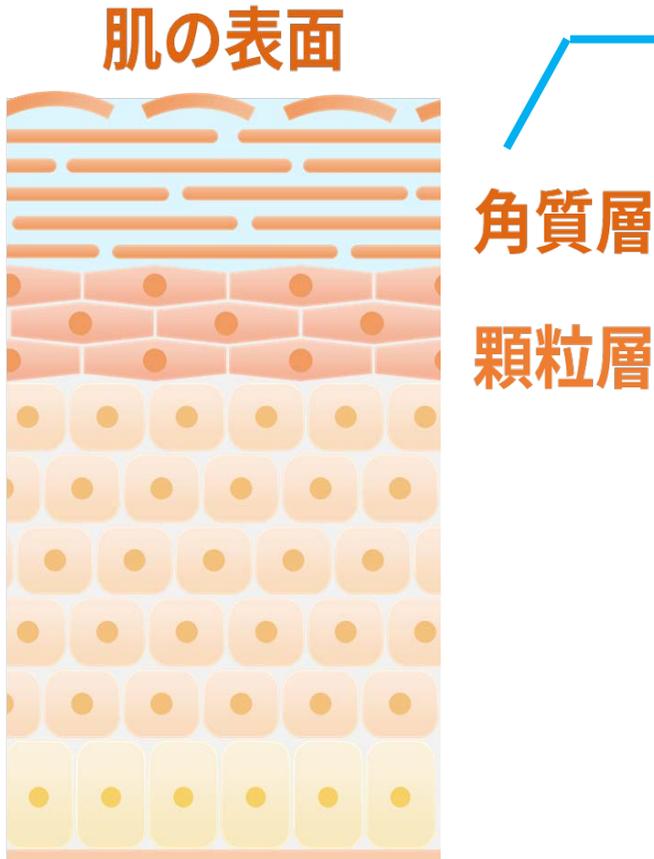
集中力の低下



睡眠不足

皮膚のバリア機構

- 水分の保持
- 外的刺激の防止
- 病原菌の侵入阻止



コラーゲン

加齢により、コラーゲン合成酵素の発現量が低下する。
Int. J. Cosmet. Sci (2010)

ヒアルロン酸

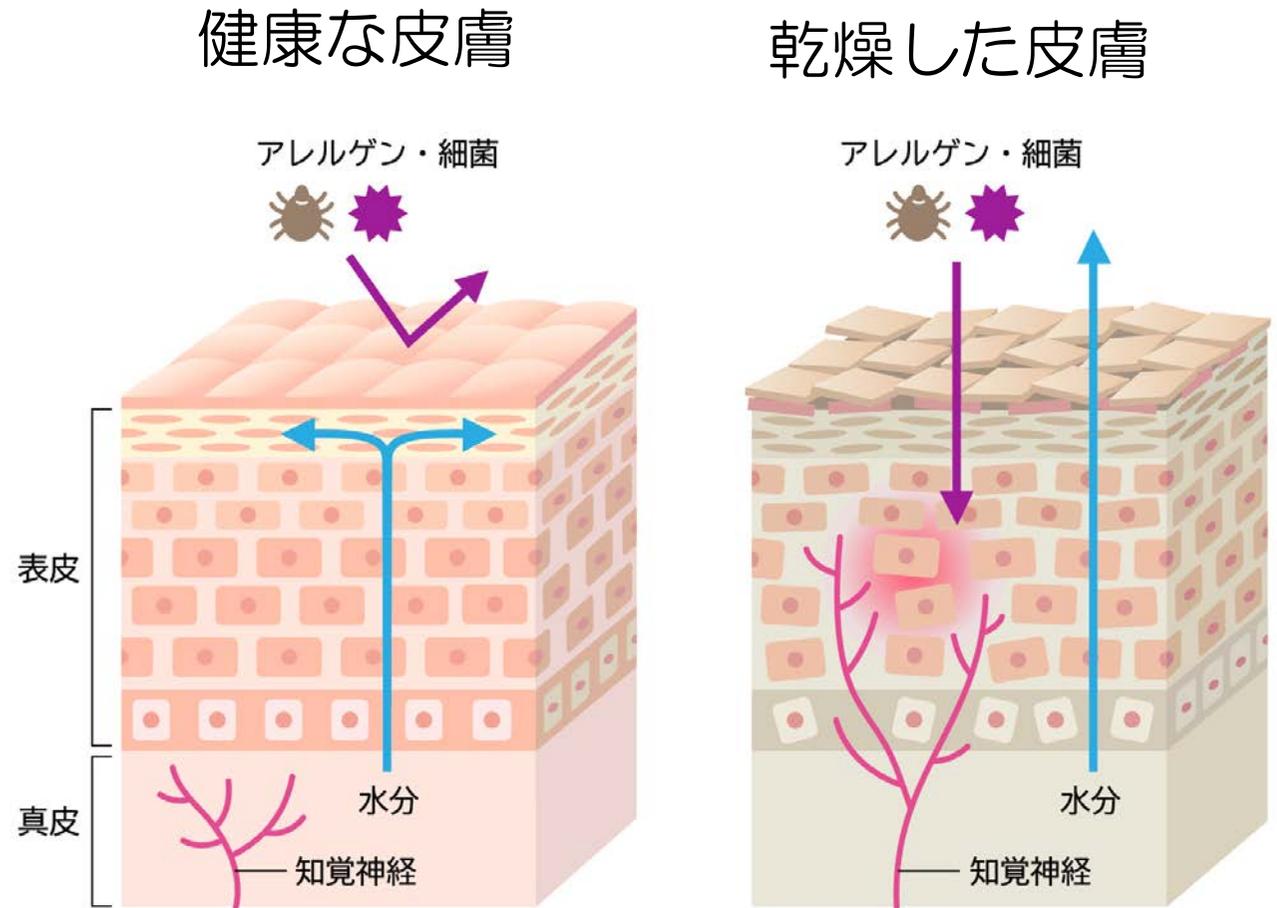
加齢により、ヒアルロン酸合成酵素の発現量が低下する。
J. Invest. Dermatol (2015)

天然保湿因子

加齢により、カスパーゼ-14の発現量が低下する。
Proteomics (2016)

皮膚のバリア機能の低下により、肌が乾燥しやすくなる。

1. 乾燥により皮膚の内部で炎症がおこる。
2. 乾燥によりかゆみを伝える知覚神経が皮膚の表面近くにまで伸びる。



老人性乾皮症治療薬の種類と問題点

スキンケア化粧品、保湿薬

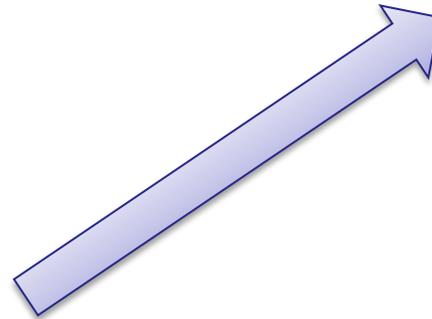
花王	ライオン
ロート製薬	持田ヘルスケア
マルホ	鳥居薬品

抗ヒスタミン薬

興和	サンファーマ
ファイザー	東和薬品

外用ステロイド薬

塩野義製薬	田辺三菱製薬
グラクソ・スミスクライン	



保湿成分の補充
かゆみの抑制
炎症の抑制
湿疹の改善

対象療法

【問題点】

- ✓ 個人差
- ✓ 治療の長期化
- ✓ 効果の減衰
- ✓ 顆粒層に効果なし

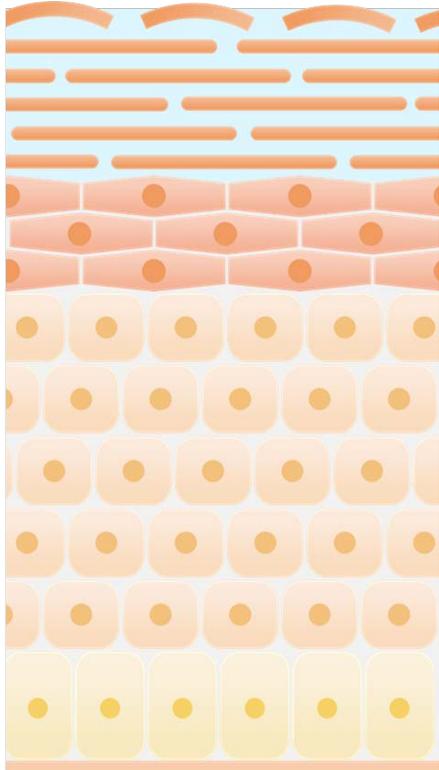
老人性乾皮症の発症に関わる

『原因分子の同定、新機序に基づく治療薬の開発』が必要

皮膚のバリア機構

- 水分の保持
- 外的刺激の防止
- 病原菌の侵入阻止

肌の表面



角質層

顆粒層

コラーゲン

加齢により、コラーゲン合成酵素の発現量が低下する。

Int. J. Cosmet. Sci (2010)

ヒアルロン酸

加齢により、ヒアルロン酸合成酵素の発現量が低下する。

J. Invest. Dermatol (2015)

天然保湿因子

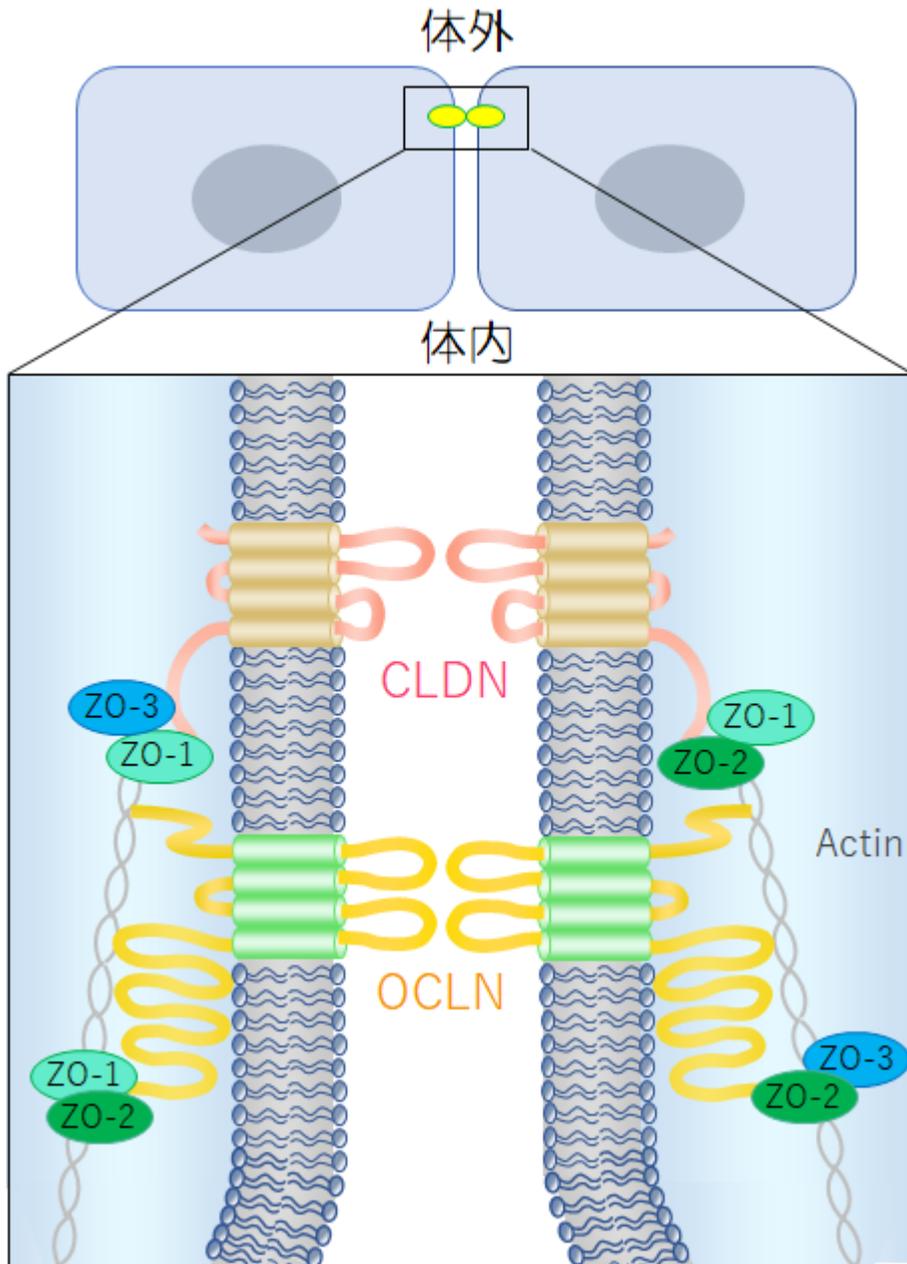
加齢により、カスパーゼ-14の発現量が低下する。

Proteomics (2016)

タイトジャンクション

細胞間接着分子のクローディン (CLDN)、足場タンパク質のZO-1などによって形成される。

タイトジャンクションとは



【機能】

- 細胞間物質透過性の制御
- 頂端膜・基底膜成分の拡散制御
- 細胞の増殖・分化の調節

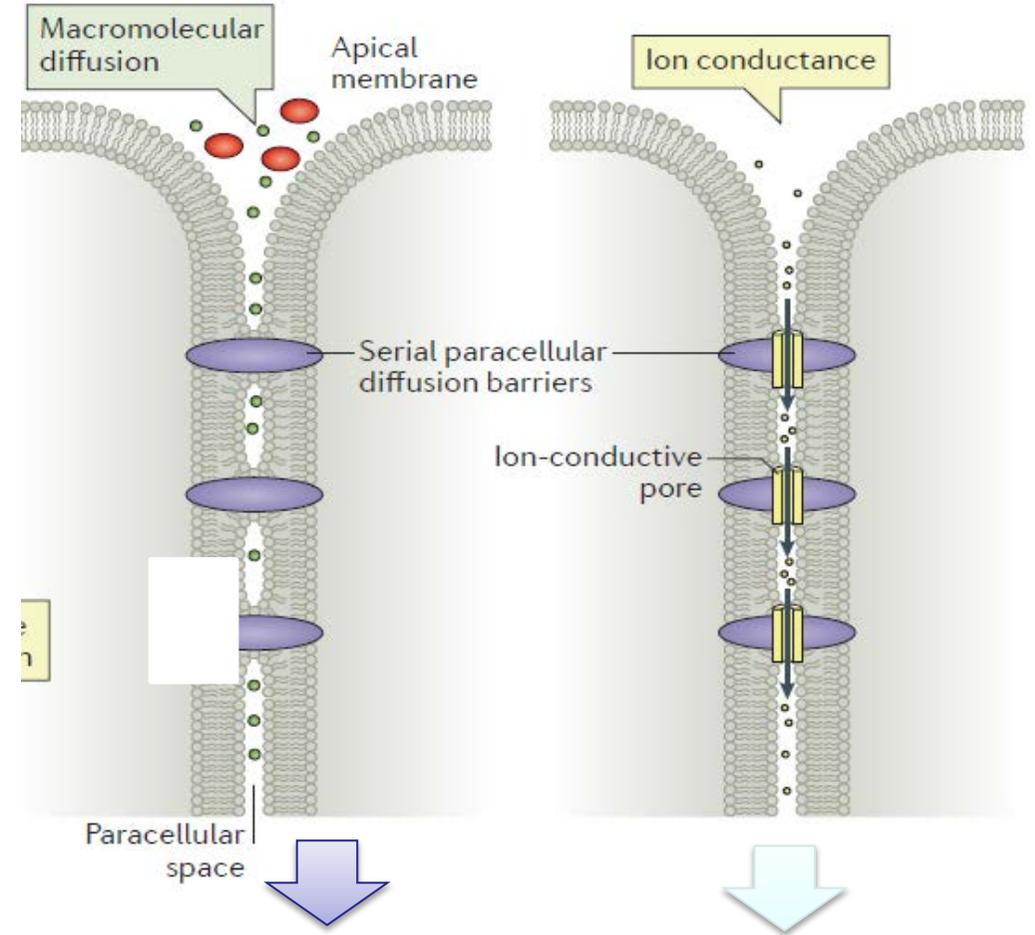
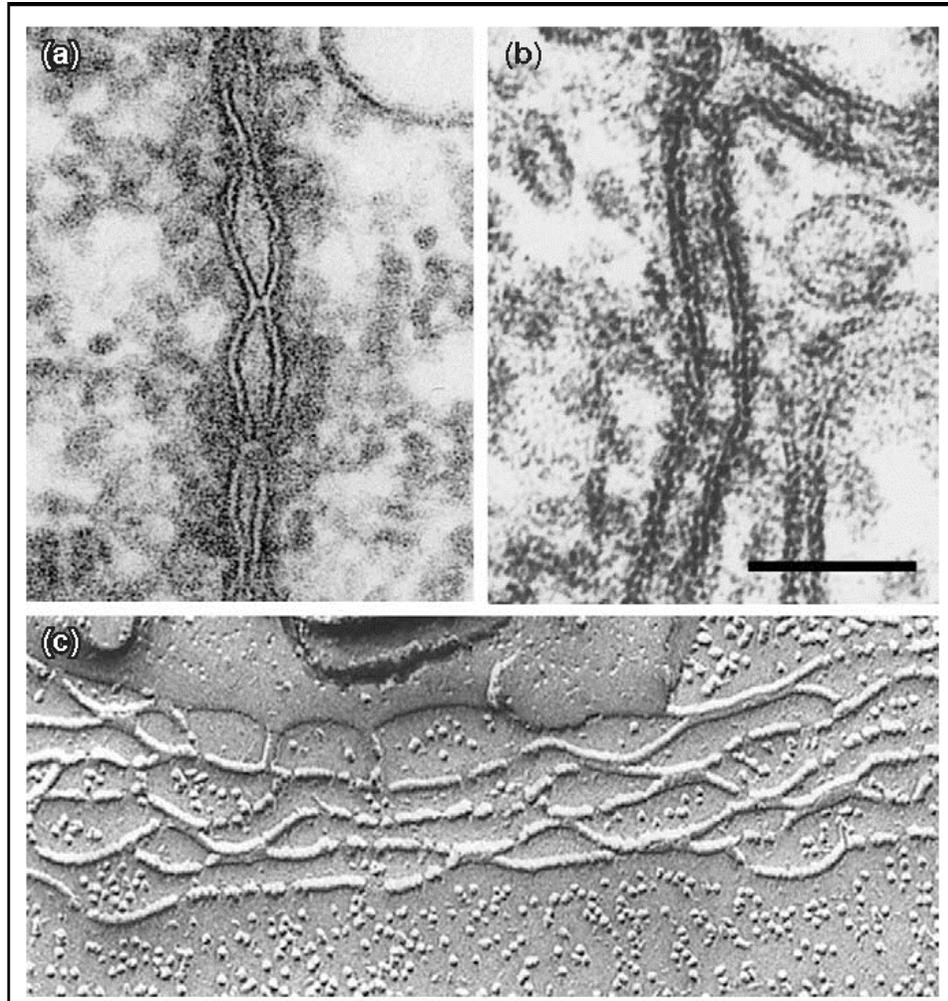
【構成分子】

- 膜貫通型タンパク質
クローディン、オクルディン (OCLN) など
- 裏打ちタンパク質
ZO-1、ZO-2、ZO-3など

【クローディン (CLDN)】

- 27種類のサブタイプがあり、組織によって発現パターンが異なる
- 正常皮膚組織にはCLDN1、4、7が主に発現

タイトジャンクションの構造と機能



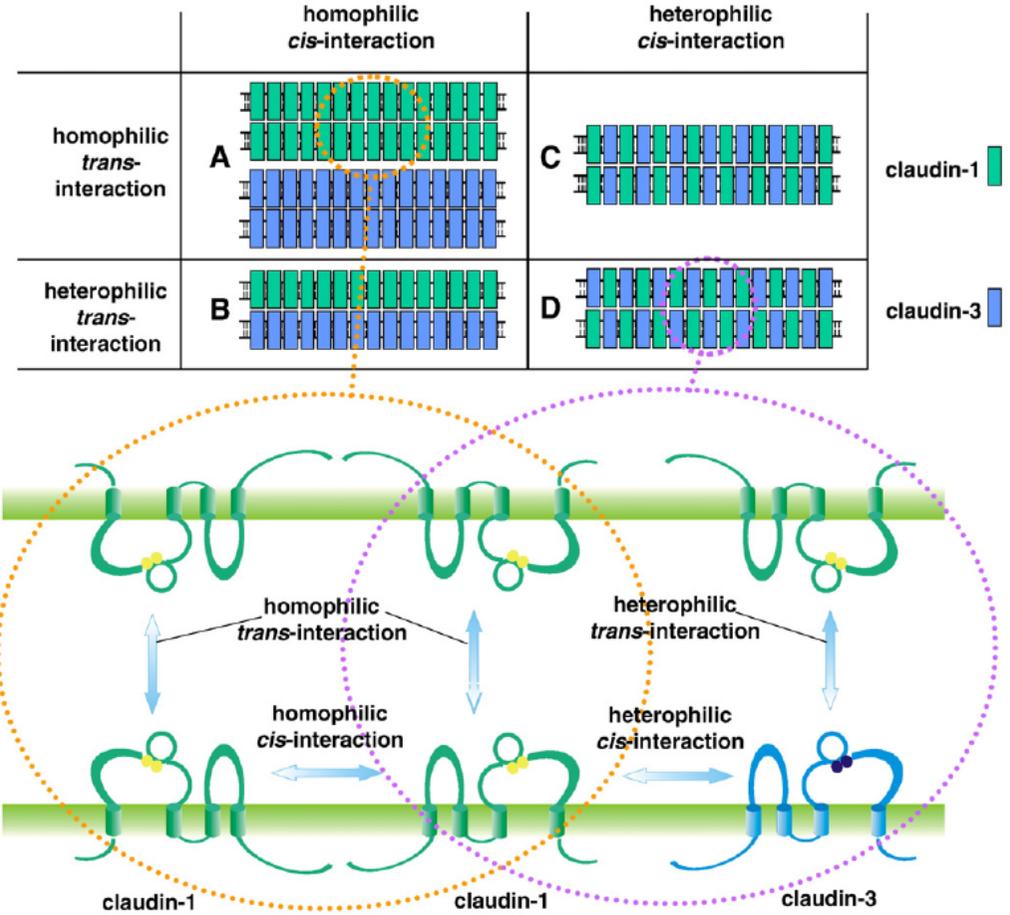
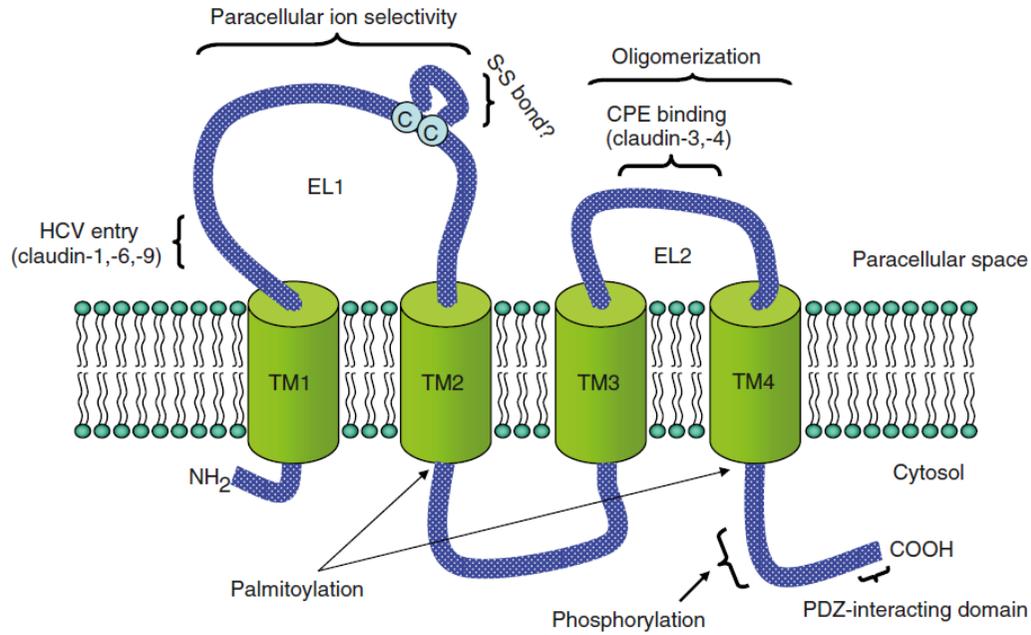
- ① 高分子の移動を阻害
- ② 電解質イオンの移動を阻害

天然保湿因子の保持

水分の保持

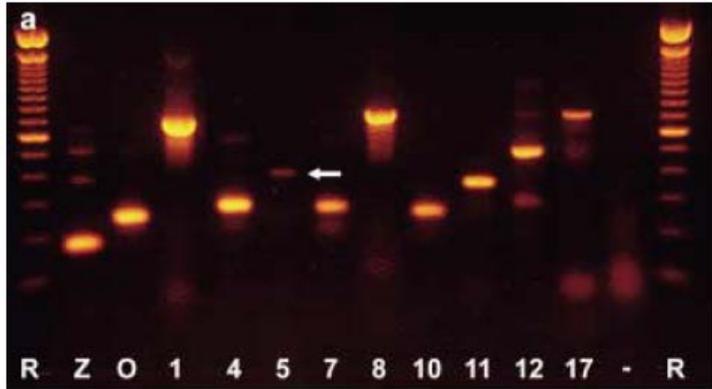
Furuse M et al., 181-188, Trends Cell Biol. (2006)
Zihni C et al., 564-580, Nature Rev. (2016)

細胞間バリア機能の多様性

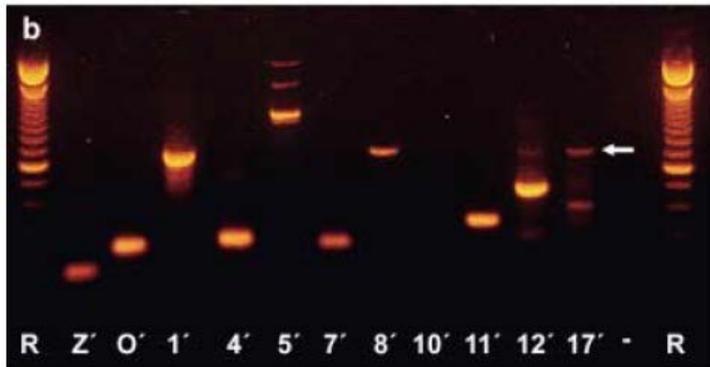


Krause G et al., 631-645,
Biochim. Biophys. Acta (2016)

ヒト皮膚組織

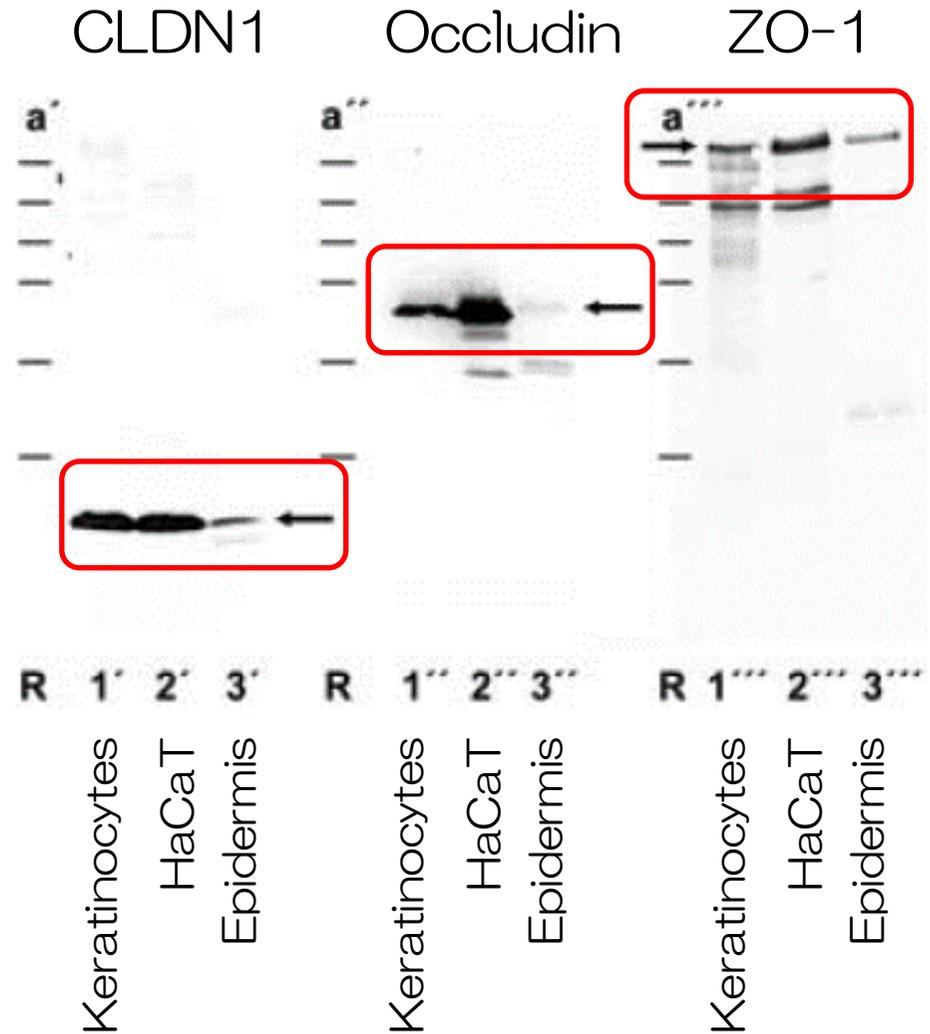


ケラチノサイト



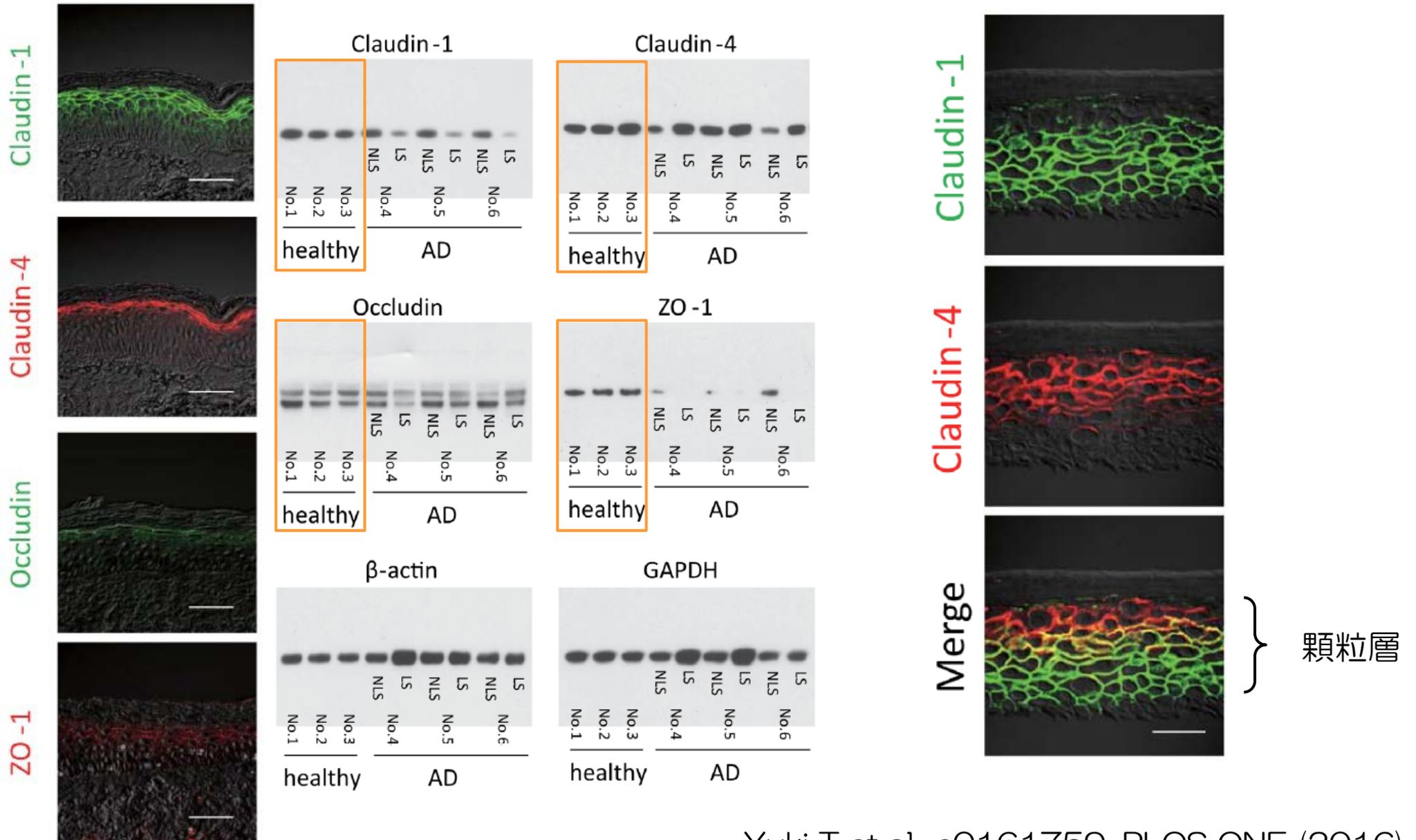
共通

CLDN-1, 4, 7,
8, 11, 12, 17



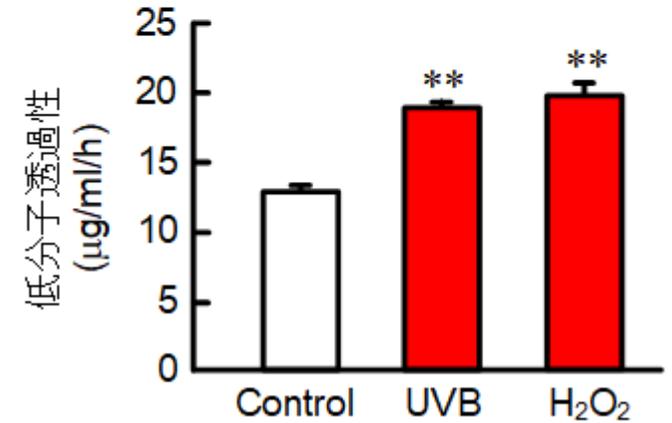
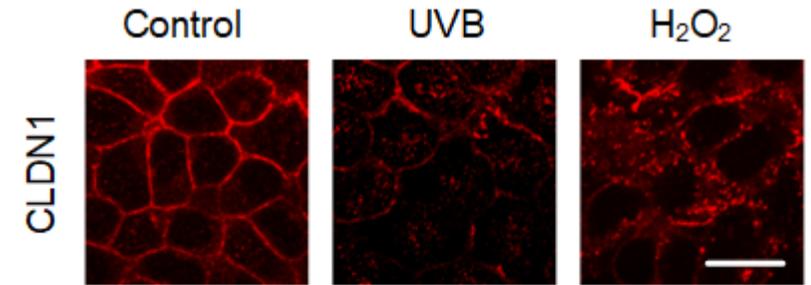
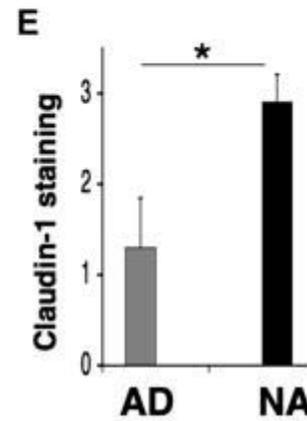
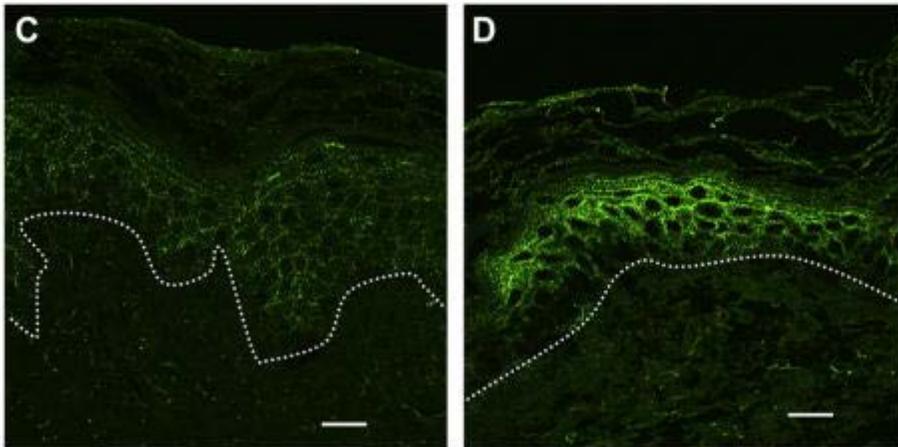
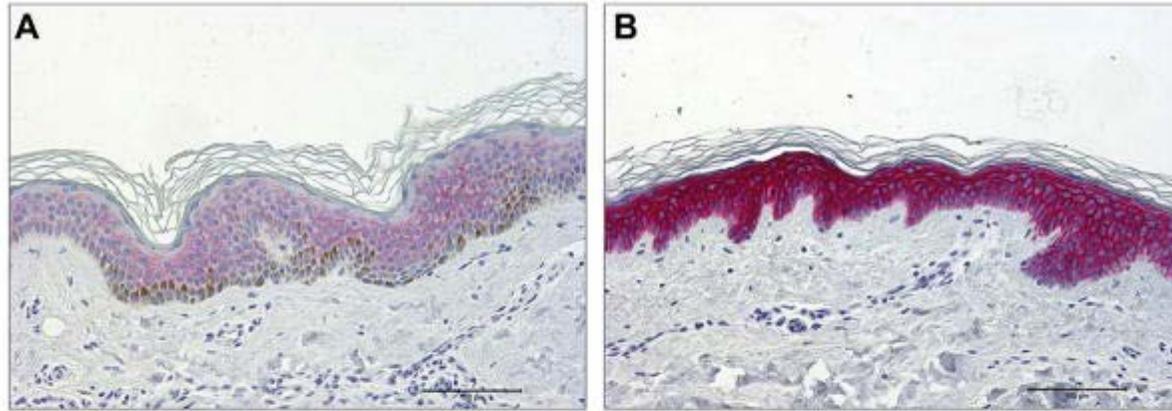
Brandner JM et al., 253-253, Eur. J. Cell Biol. (2002)

顆粒層におけるCLDNの発現パターン



Yuki T et al., e0161759, PLOS ONE (2016)

アトピー性皮膚炎におけるCLDN1発現の低下

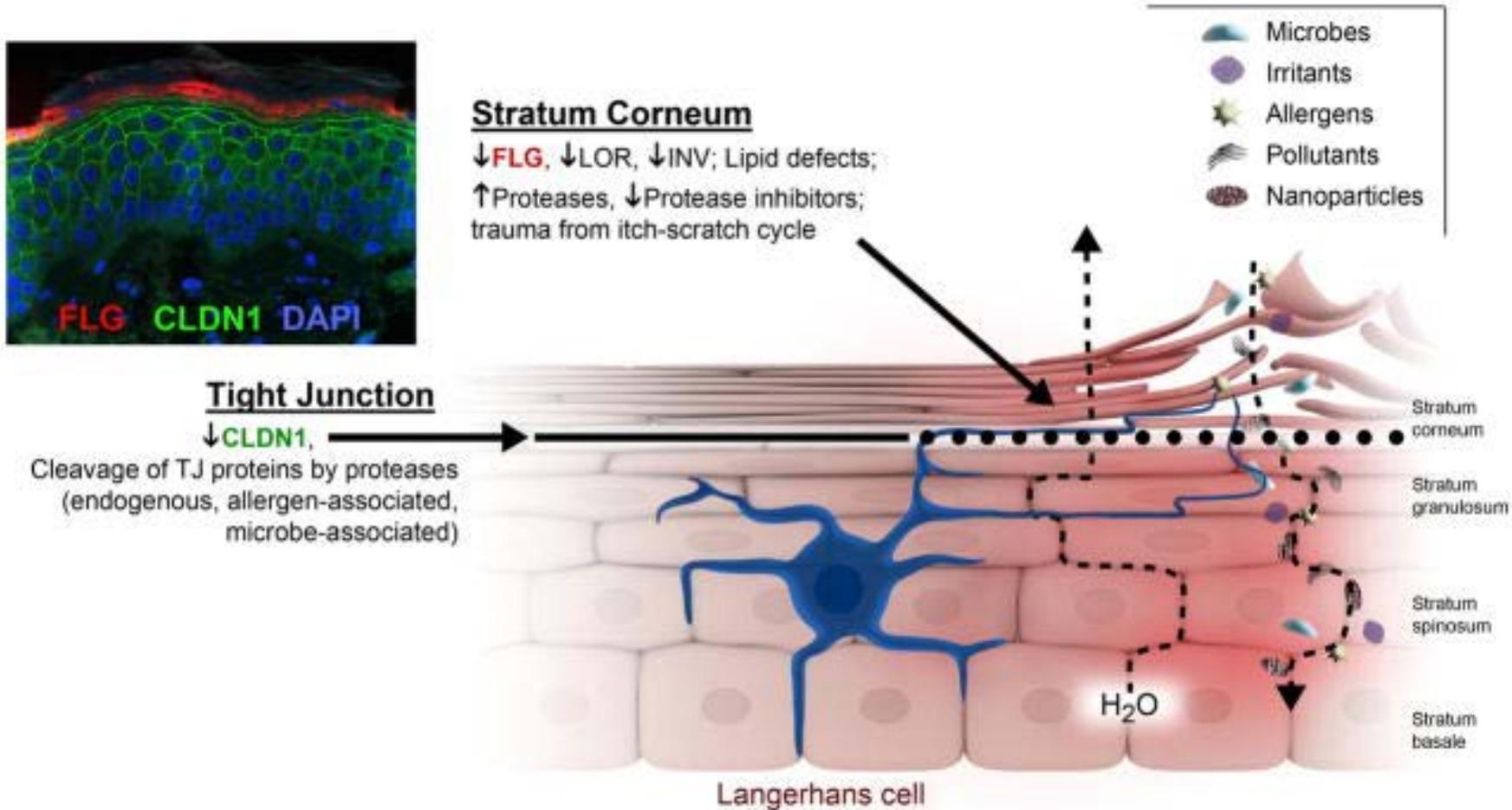


Marunaka K, Int. J. Mol. Sci. (2019)

Benedetto AD, J. Allergy Clin. Immunol. (2011)

アトピー性皮膚炎の患者で、皮膚のCLDN1発現が低下している。

紫外線や酸化ストレス刺激により、タイトジャンクションのCLDN1発現が低下し、細胞間分子透過性が亢進する。



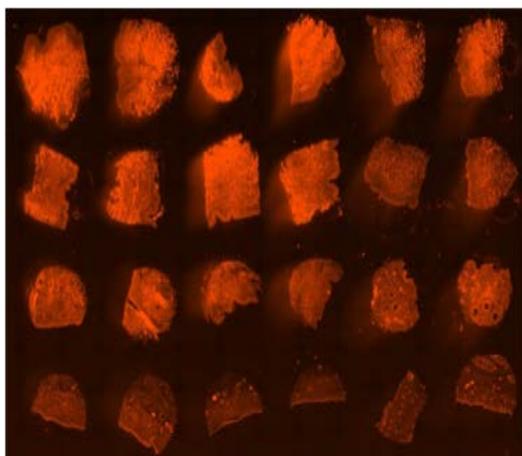
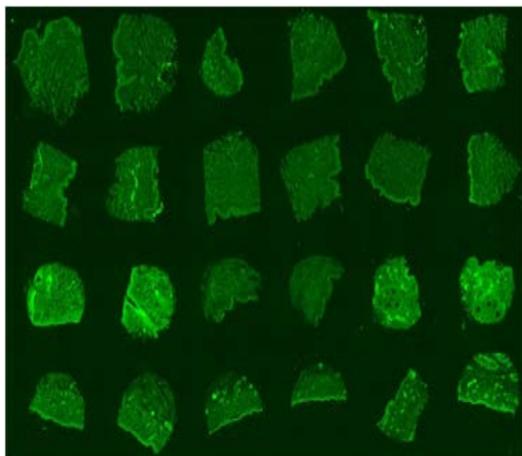
Benedetto AD, J. Allergy Clin. Immunol. (2011)

CLDN1発現の低下はアトピー性皮膚炎に関係するが、CLDN4の役割は？

加齢による皮膚CLDN4発現の低下

皮膚組織切片

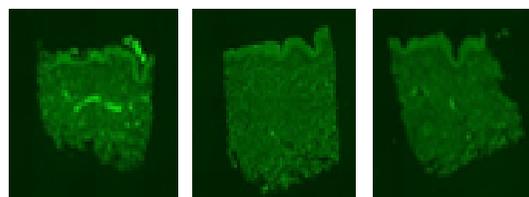
年齢



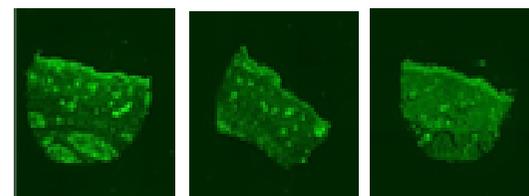
CLDN1

ヒト皮膚におけるCLDN発現に対する加齢の影響

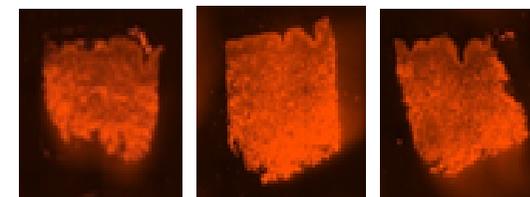
19~27歳



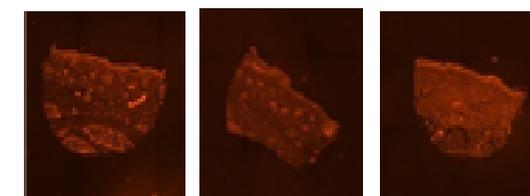
50~52歳



19~27歳



50~52歳



表層

下層

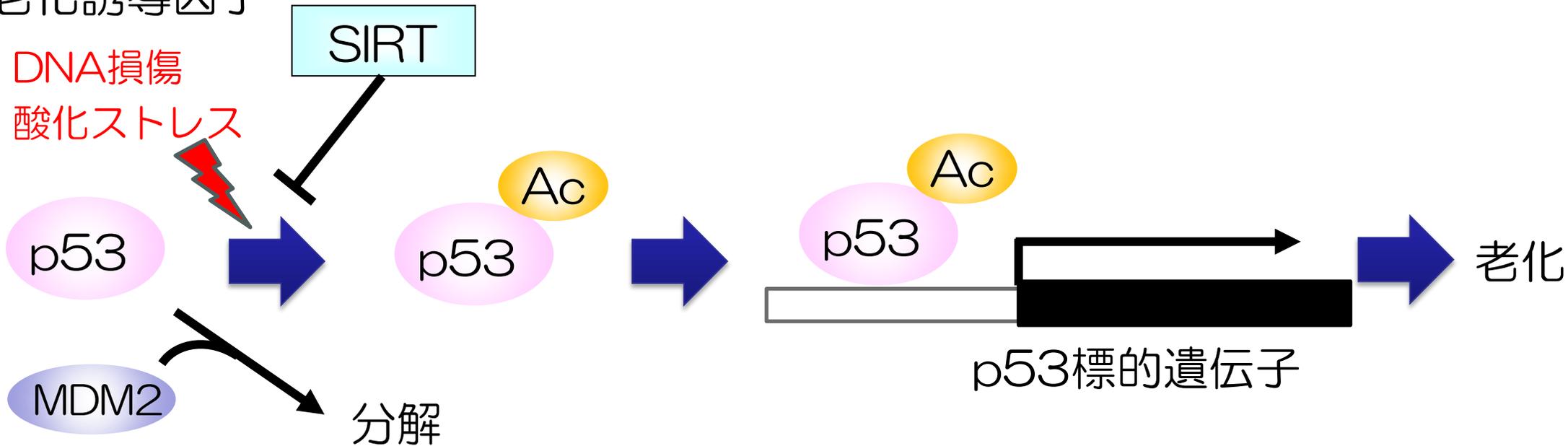
表層

下層

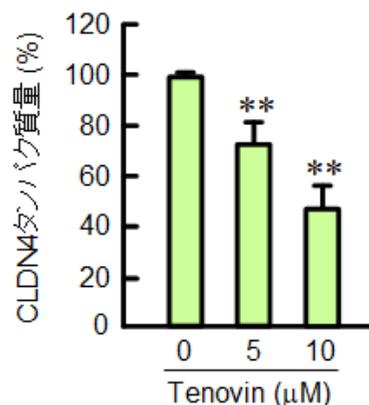
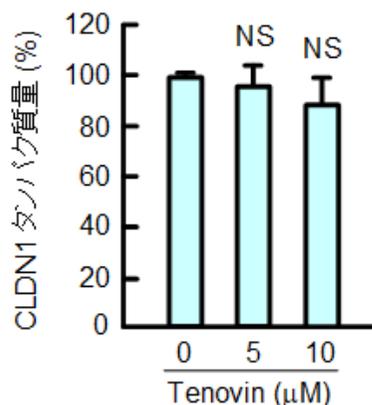
高齢者の皮膚組織では、CLDN4発現を示す赤色蛍光が減弱した。

老化誘導因子

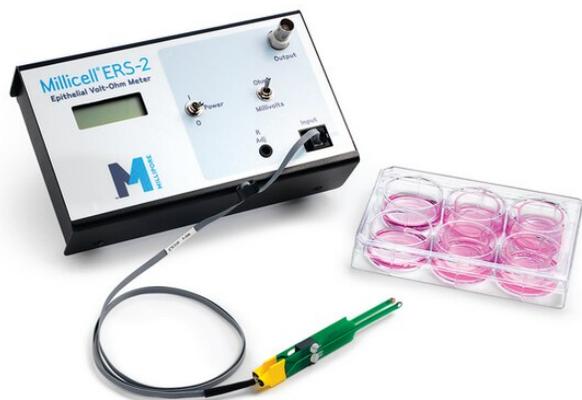
DNA損傷
酸化ストレス



ヒト角化細胞におけるCLDN発現に対するtenovinの効果



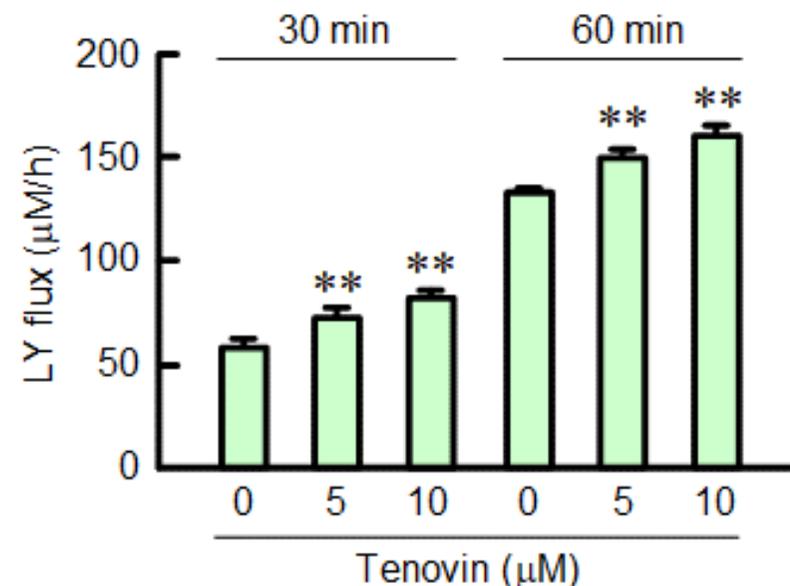
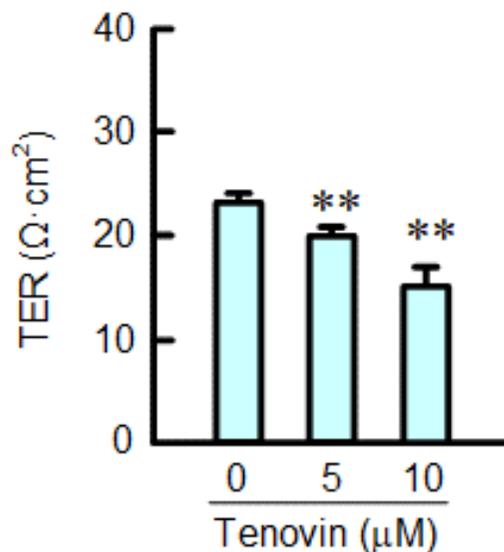
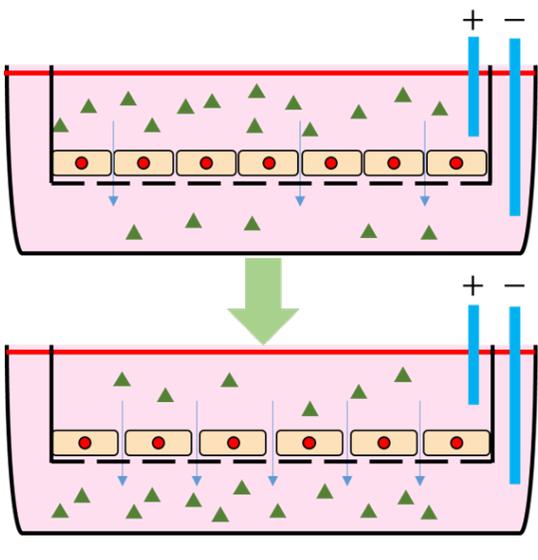
SIRT1/2阻害剤であるtenovin処理により、CLDN1発現は変化しなかったが、CLDN4発現が有意に低下した。



トランスウェルアッセイの概要

透過性の評価

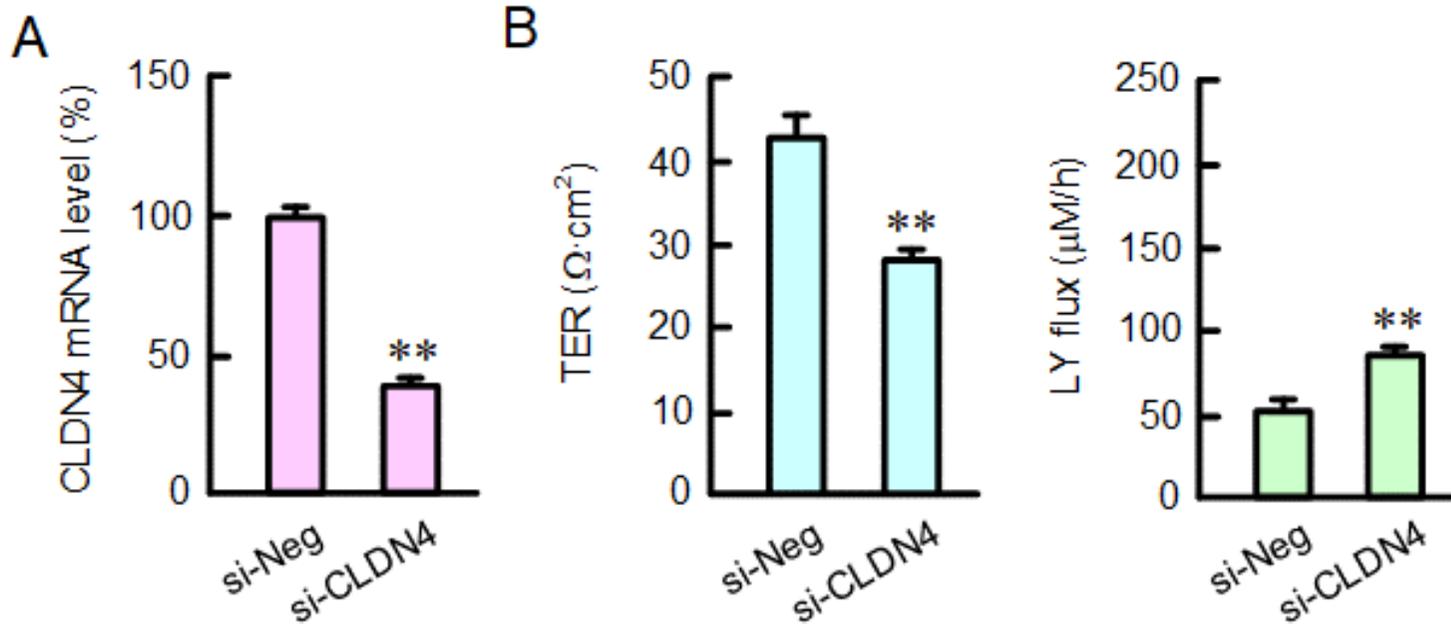
TER測定



Tenovin処理により、TERが低下(イオン透過性が増加)、LY (低分子)透過性が増加した。



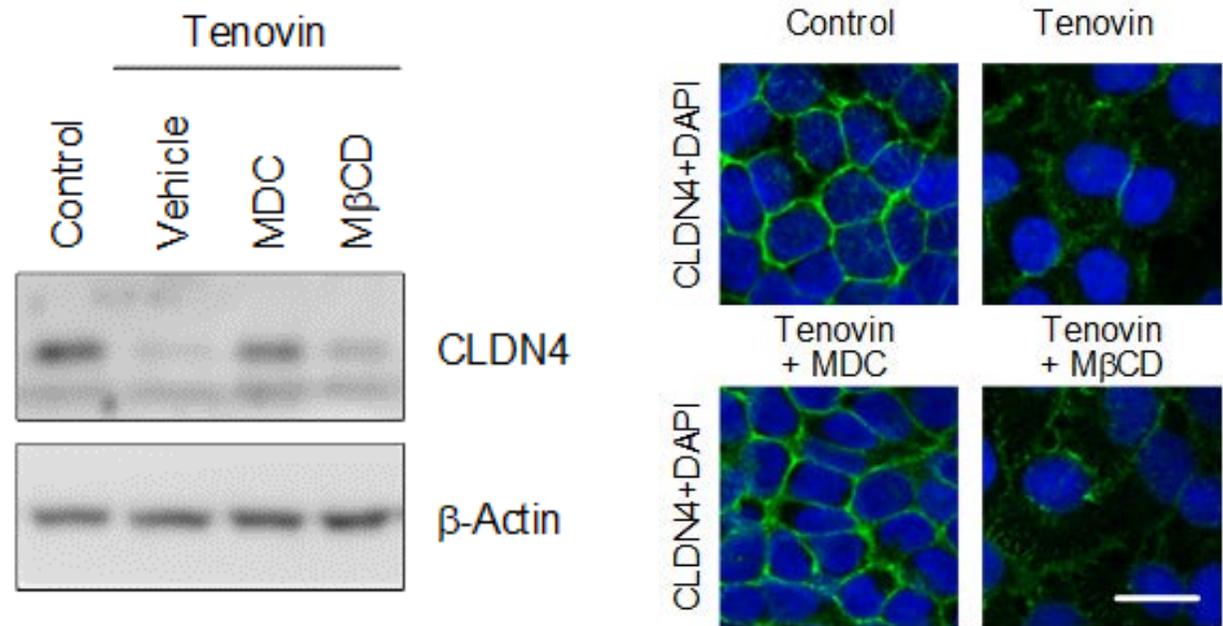
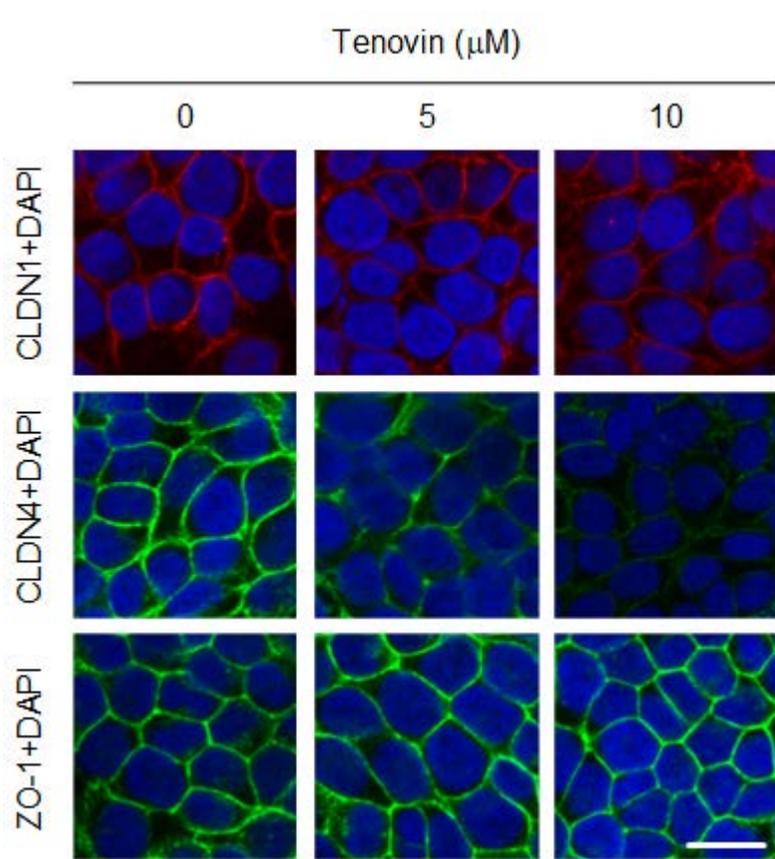
細胞間バリア機能の減弱



CLDN4発現のノックダウンにより、TERが低下(イオン透過性が増加)、LY (低分子)透過性が増加した。



CLDN4は細胞間バリア機能の増強作用をもつ。

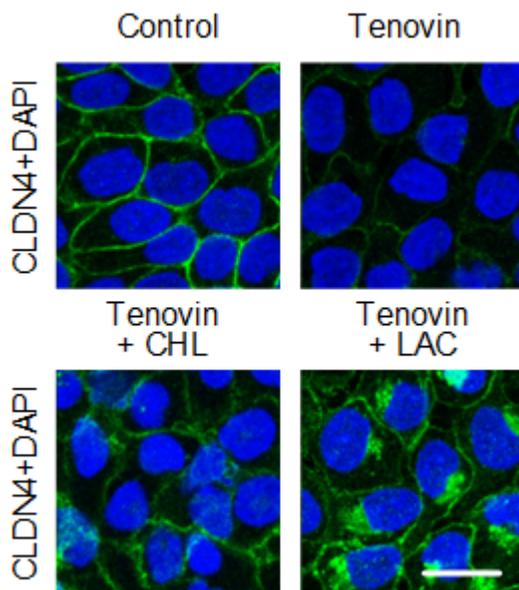
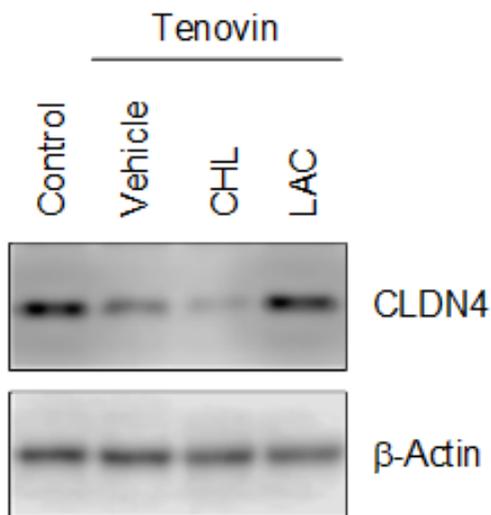


MDC：クラスリン依存性エンドサイトーシス阻害剤

Tenovin処理により、CLDN4の緑色蛍光が減弱したが、CLDN1やZO-1の蛍光は変化しなかった。

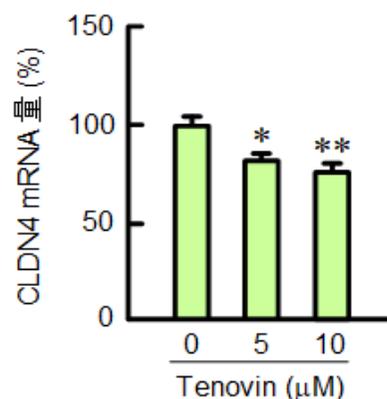
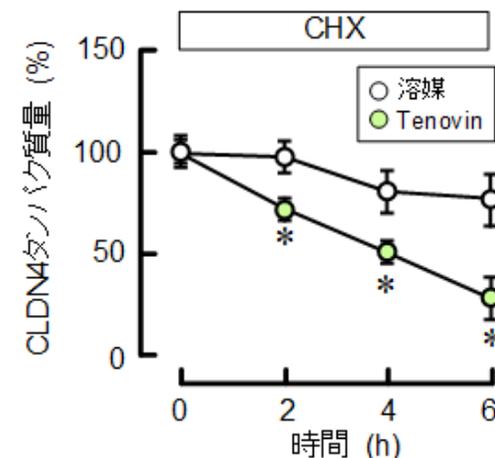
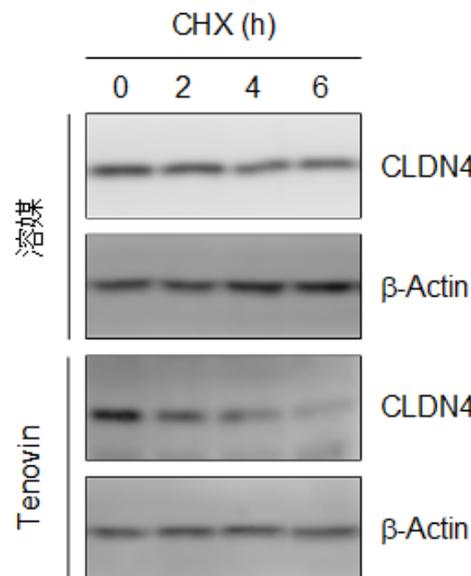
Tenovin処理によるCLDN4発現の低下は、クラスリン依存性エンドサイトーシス阻害剤の共処理によって阻害された。

SIRT阻害によるCLDN4発現の低下機構 ②



LAC: リソソーム阻害剤

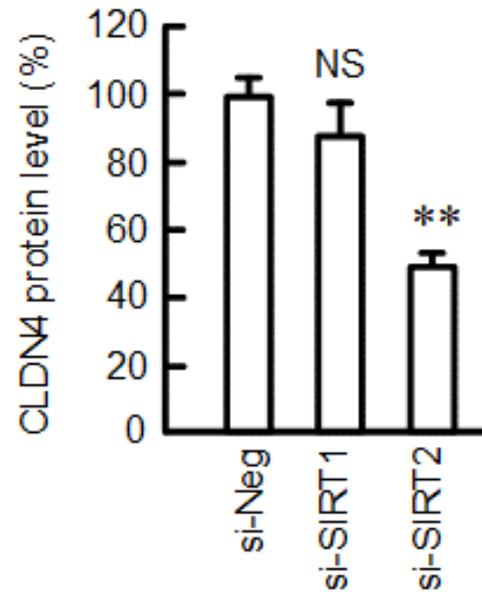
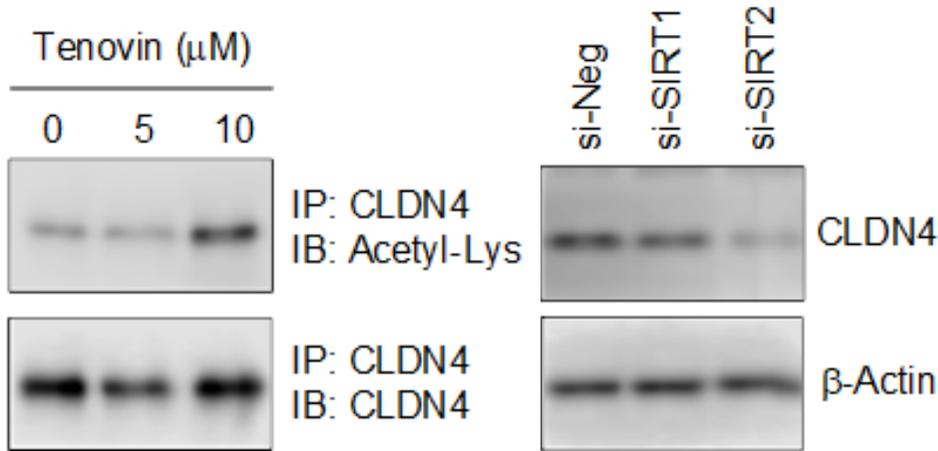
Tenovin処理によるCLDN4発現の低下は、リソソーム阻害剤の共処理によって阻害された。



Tenovin処理により、CLDN4のmRNA発現よりもタンパク質発現の方が、大きく低下した。



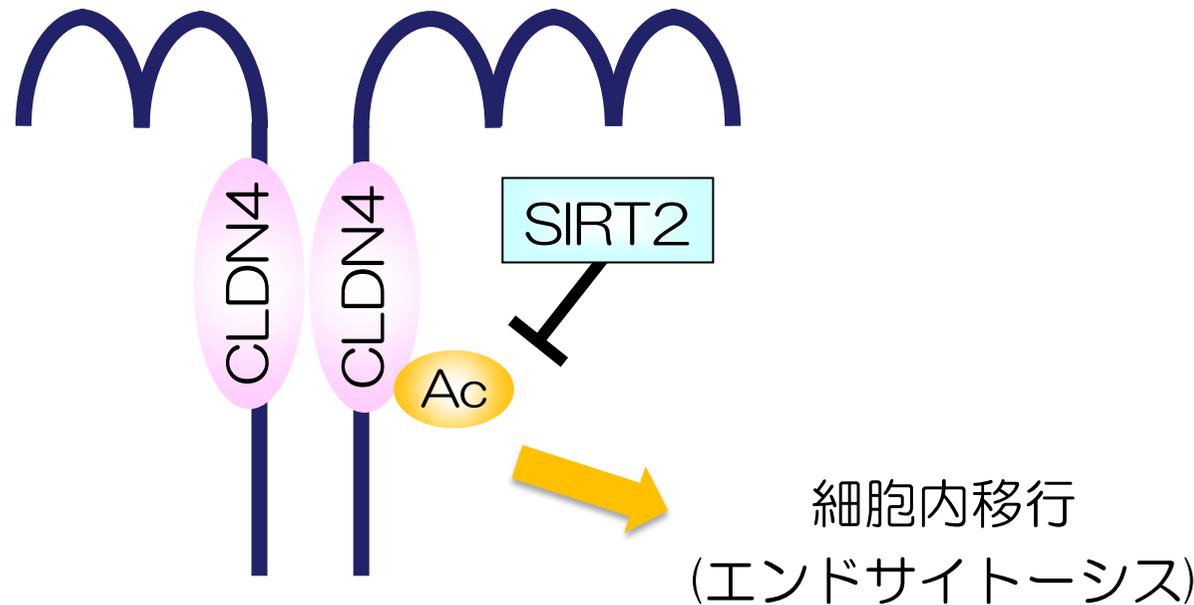
TenovinはCLDN4タンパク質のリソソーム分解を促進する。



脱アセチル化酵素であるSIRT2活性の低下により、CLDN4タンパク質のアセチル化と発現低下が亢進した。



<CLDN4の分解機構>

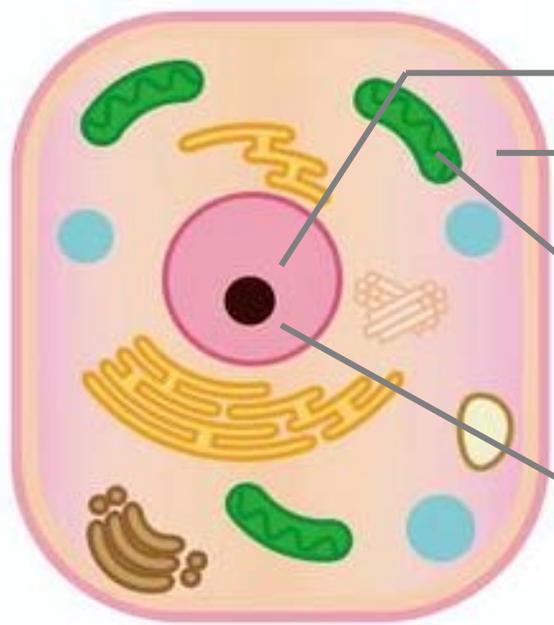


アセチル化修飾によりCLDN4タンパク質の分解が促進する。

リソソーム分解



SIRTの種類と作用薬



SIRT1 : 核

SIRT2 : 細胞質

SIRT3 : ミトコンドリア

SIRT4 : ミトコンドリア

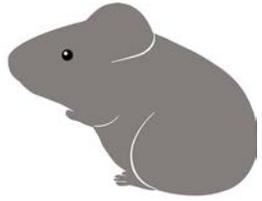
SIRT5 : ミトコンドリア

SIRT6 : 核

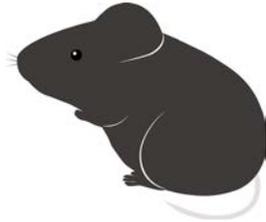
SIRT7 : 核小体

SIRT1 活性化薬	SIRT1 阻害薬	SIRT2 活性化薬	SIRT2 阻害薬
Nicotinamide riboside	EX527	?	AK-7
Resveratrol	Tenovin-6		Salermide
Metformin	Inauhzin		AGK2
SRT3025	Sirtinol		Sirtinol
SRT1720	Suramin		Thiomyristoyl

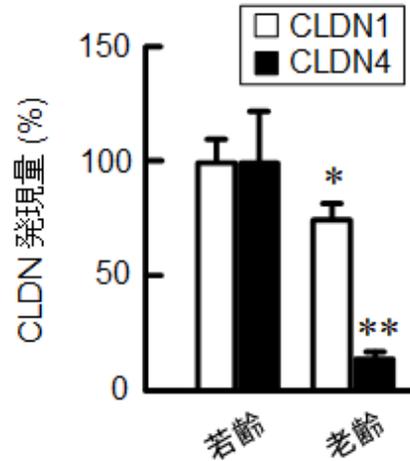
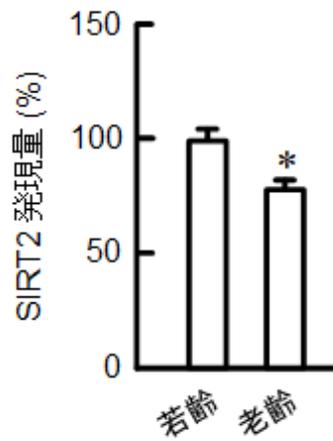
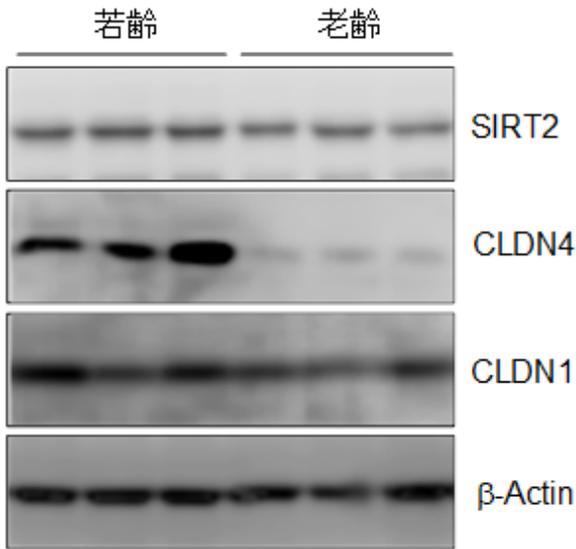
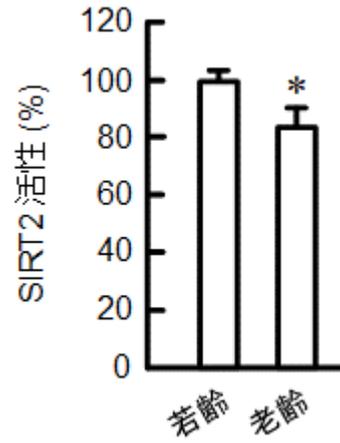
加齢による皮膚SIRT2活性とCLDN4発現の低下



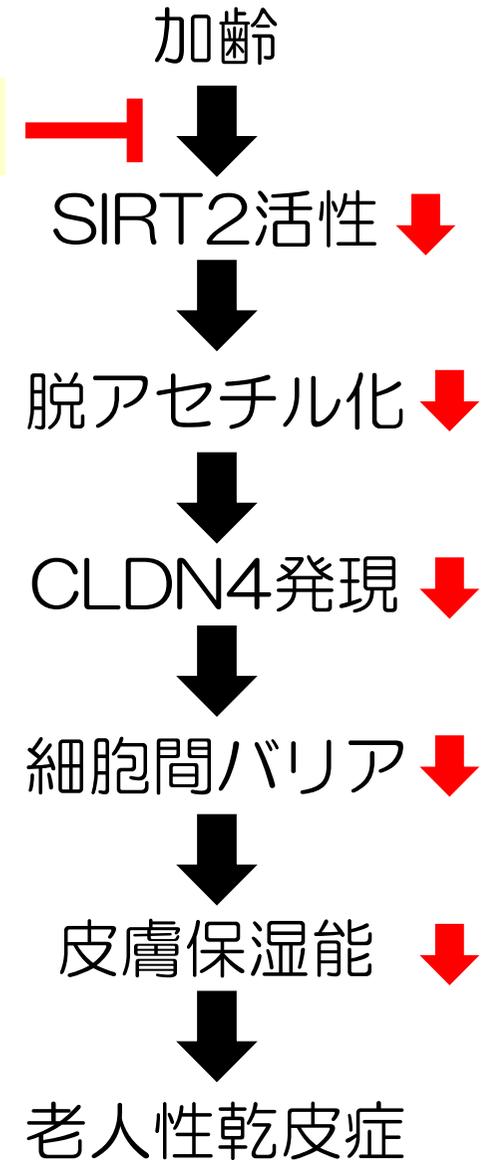
若齢マウス
(6週齢)



老齢マウス
(37週齢)

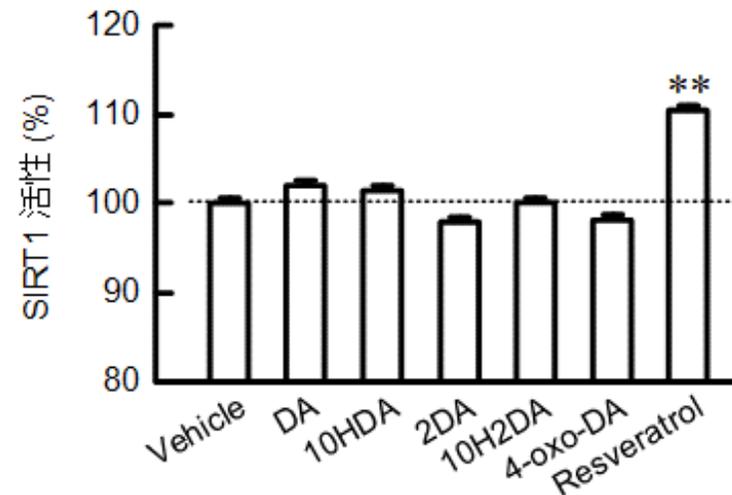
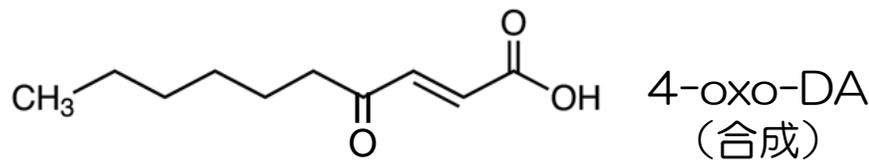
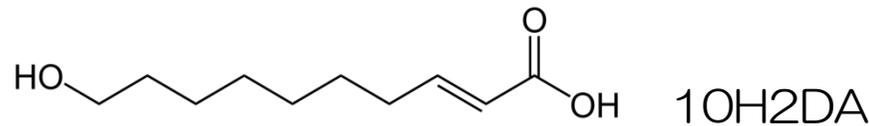
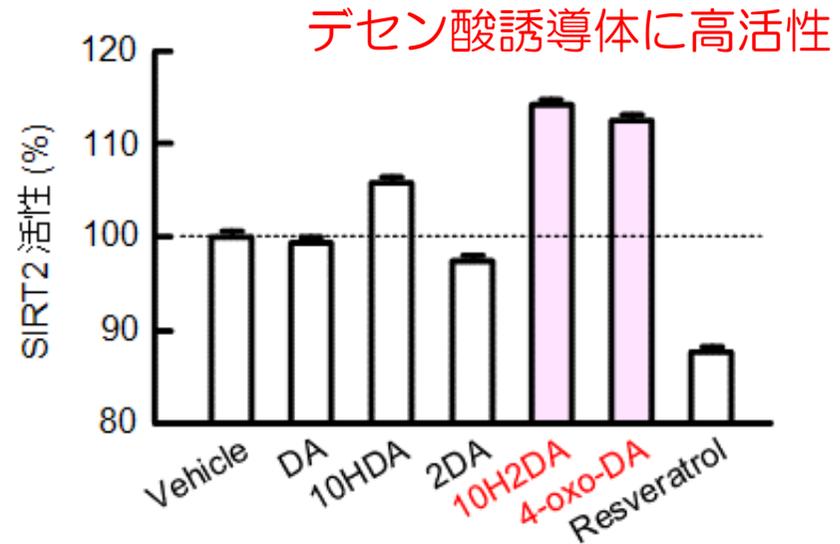
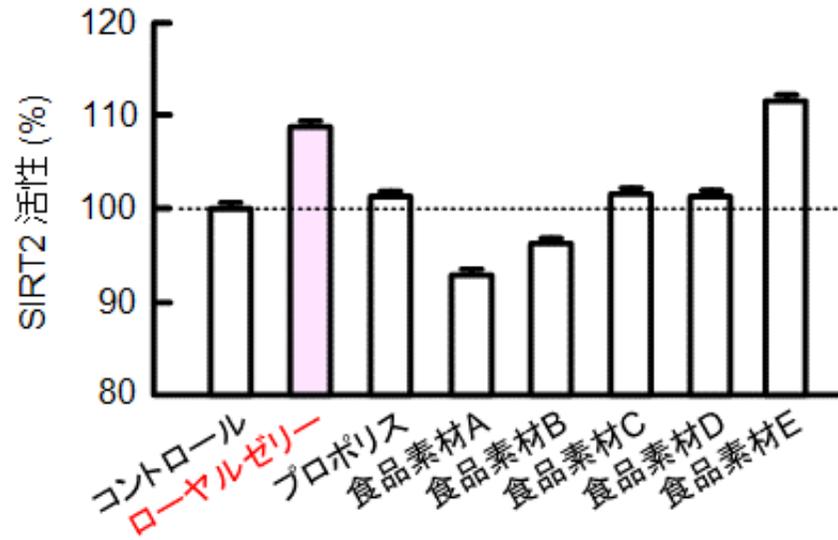


化合物



SIRT2活性化作用をもつ化合物は、
老人性乾皮症に対する新たな予防・治療薬になる。

食品素材を用いたSIRT2活性化薬の探索

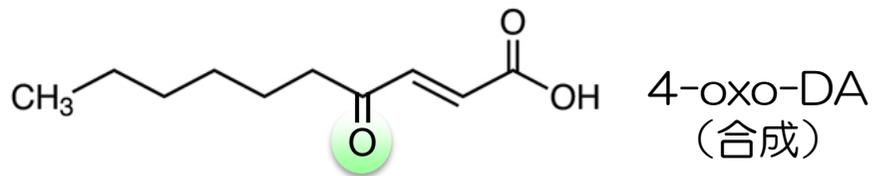
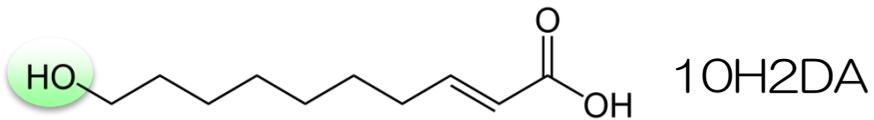
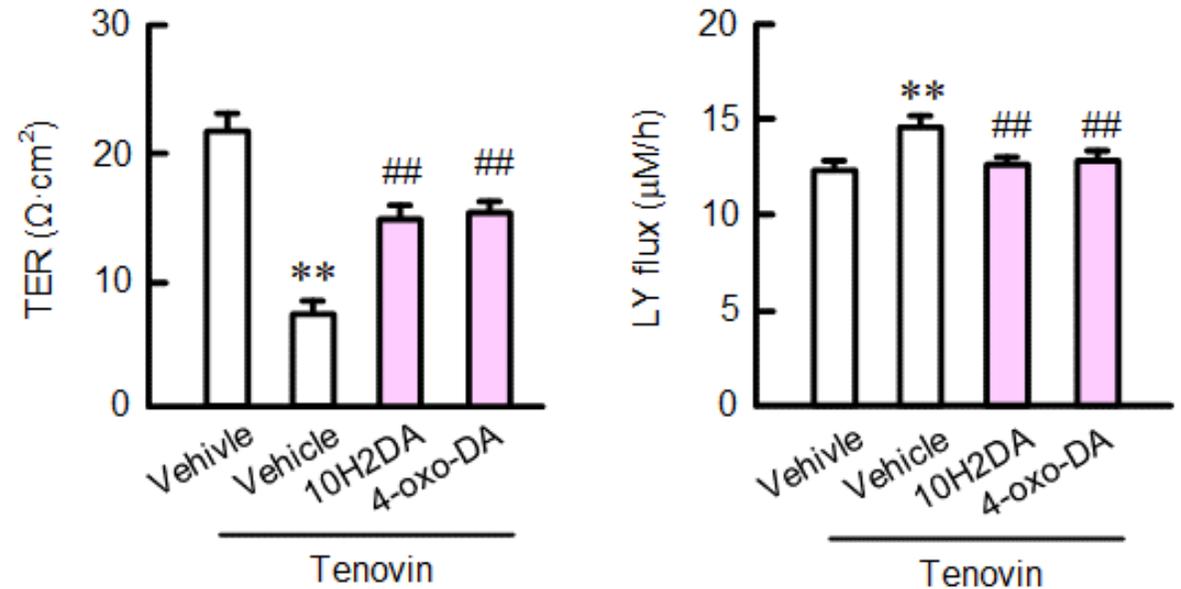


10H2DAと4-oxo-DAは、SIRT1に作用せず、SIRT2を活性化した。

CLDN4の発現低下を改善



細胞間バリア機能の低下を改善

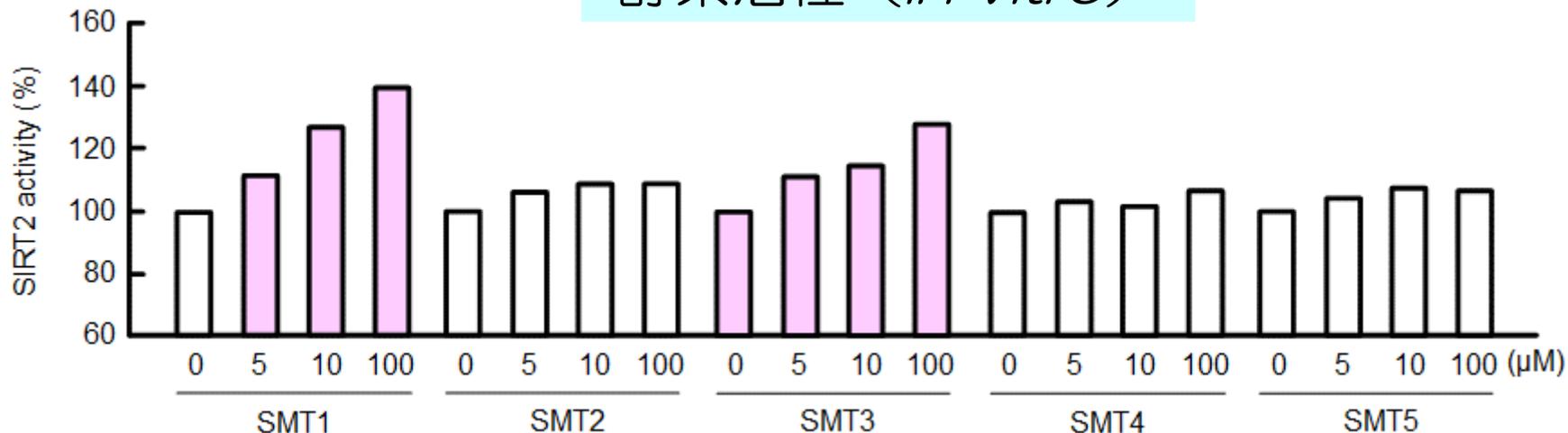


10位の水酸基や4位のオキシ基をもつ
デセン酸誘導体が、SIRT2活性化薬の
リード化合物になる。

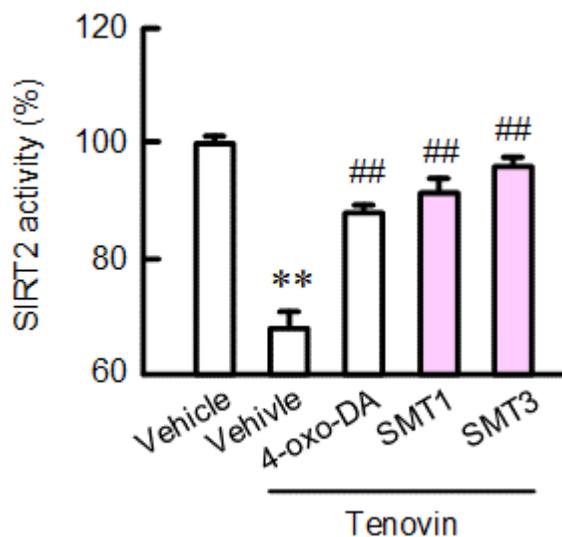
新規SIRT2活性化薬の開発

5種類を合成
SMT1~5

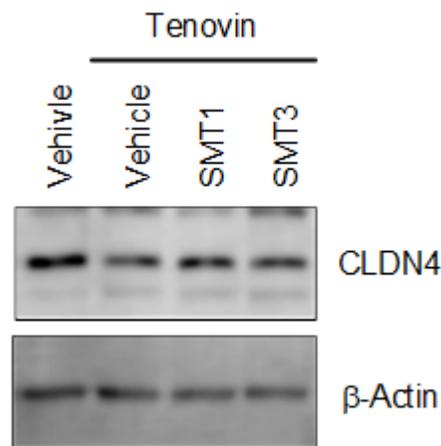
酵素活性 (*in vitro*)



酵素活性 (細胞抽出液)



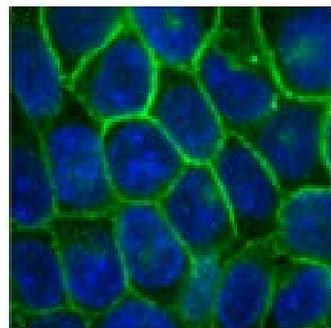
CLDN4発現



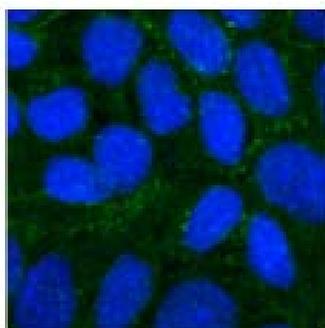
SMT1 と SMT3 は SIRT2 を活性化し、tenovinによるCLDN4の発現低下を阻害した。

CLDN4の細胞分布

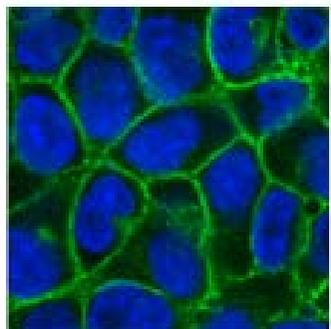
Vehicle



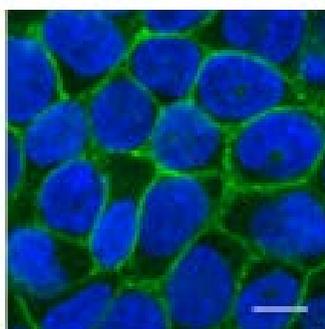
Tenovin



Tenovin + SMT1

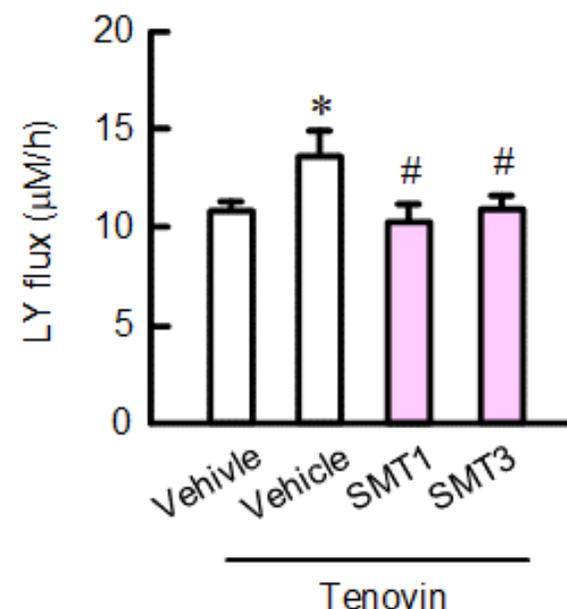
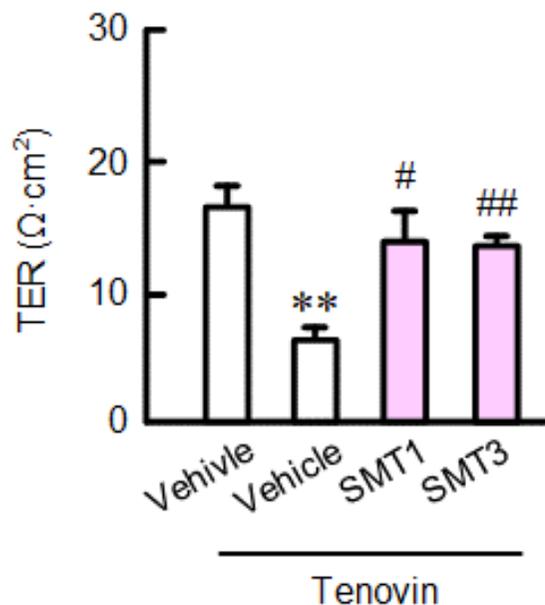


Tenovin + SMT3



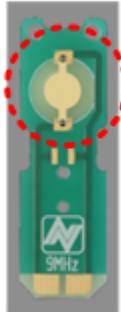
10 μ m

細胞間バリア機能



SMT1 と SMT3 は TJ における CLDN4 の分布を増加させ、細胞間バリア機能を増強した。

SMT1 → Flow



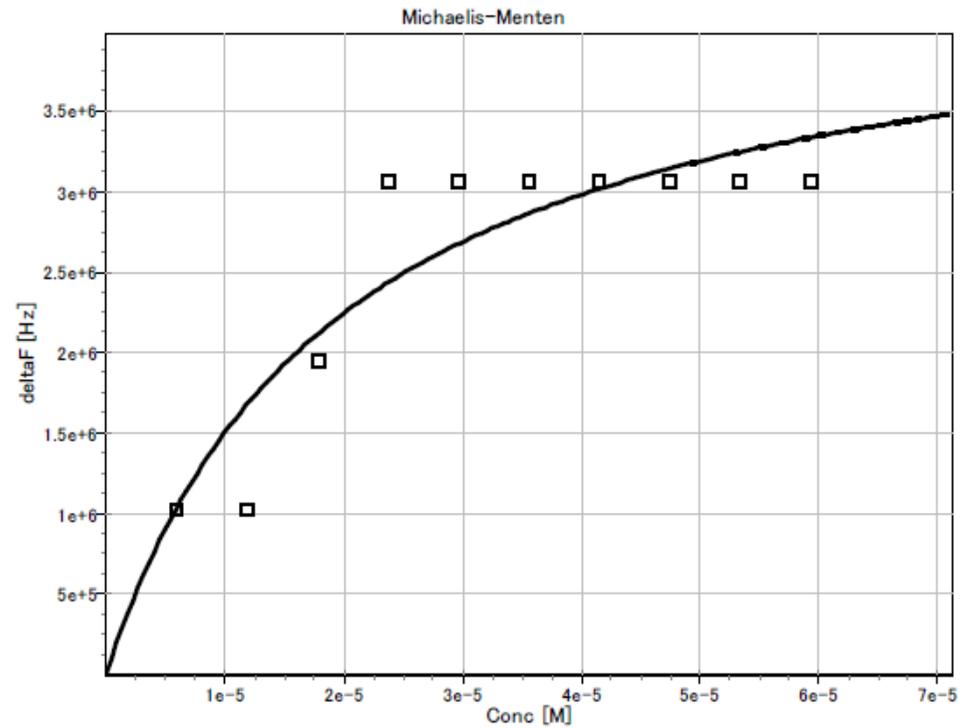
SIRT2
リコンビナント

センサーチップ



Single Q

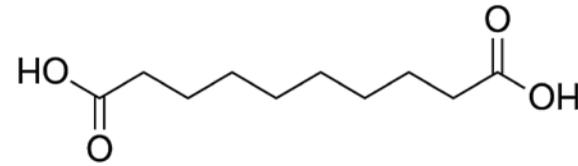
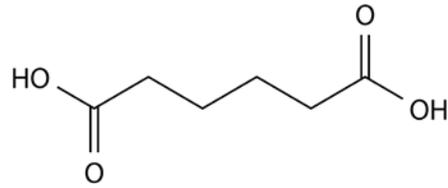
$K_d = 19.5 \mu\text{M}$



SMT1はSIRT2に直接結合した。

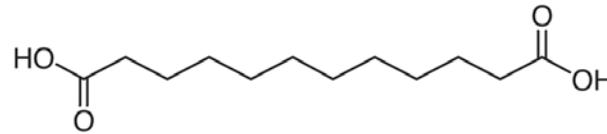
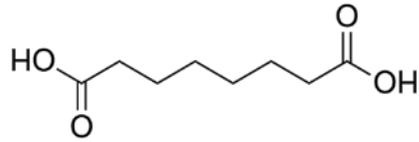
他のジカルボン酸のSIRT2活性化作用

アジピン酸
(C6)



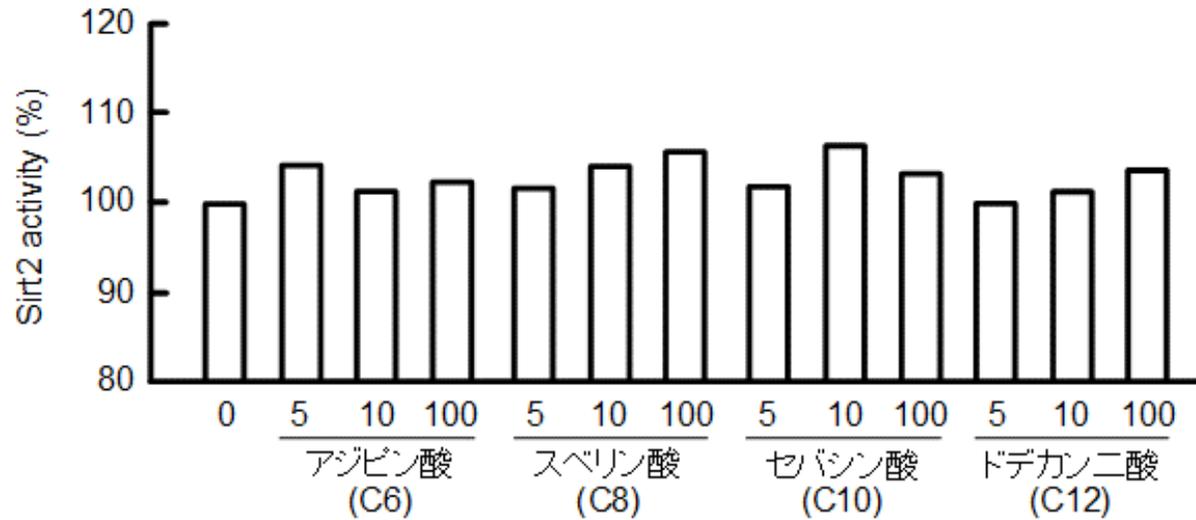
セバシン酸
(C10)

スベリン酸
(C8)



ドデカン二酸
(C12)

酵素活性 (*in vitro*)

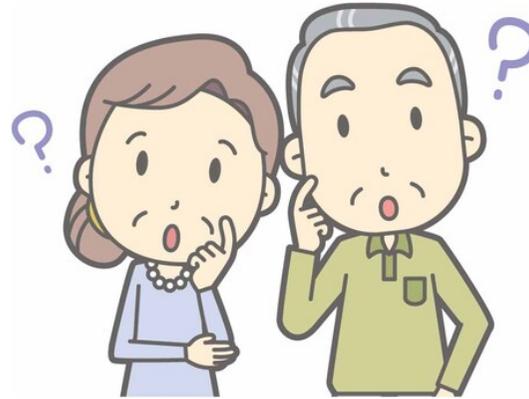


ジカルボン酸には、SIRT2活性化作用はみられなかった。

1. 加齢によりCLDN4発現が低下する
2. CLDN4発現はSIRT2によって制御される
3. CLDN4発現の低下により細胞間バリア機能も低下する
4. ローヤルゼリー含有デセン酸はSIRT2の活性化、CLDN4発現の増加、細胞間バリア機能の増強を引き起こす
5. 新規デセン酸誘導体を合成し、SIRT2活性化化合物の開発に成功した

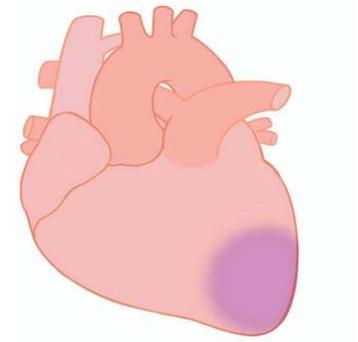
SIRT2活性化薬の応用展開

アルツハイマー病



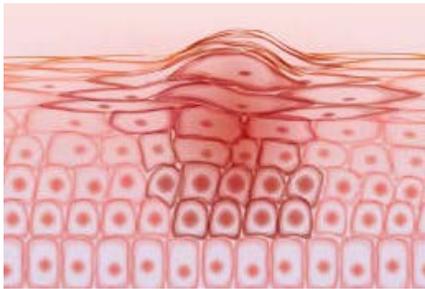
Eur. J. Pharmacol. (2020)

心肥大



Circulation (2017)

癌（乳癌）
（悪性黒色腫）



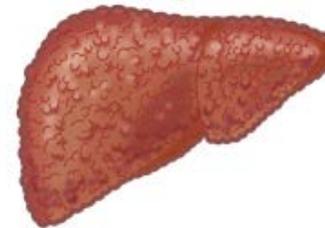
Cancer Res. (2016)

2型糖尿病



Nature Commun. (2018)

SIRT2活性
の低下



アルコール性
肝障害

Drug Metab. Disp. (2017)

発明の名称：老人性乾皮症の予防及び／又は治療薬

出願番号：特願2024-028391

出願人：岐阜市

発明者：五十里 彰、吉野 雄太、伊藤 彰近

(岐阜薬科大学)

岐阜薬科大学 生化学研究室

教授・五十里 彰

TEL: 058-230-8124

E-mail: ikari@gifu-pu.ac.jp

岐阜薬科大学 知的財産評価委員会事務局

TEL: 058-230-8100

FAX: 058-230-8105

E-mail: syomuk@gifu-pu.ac.jp