

## カエル皮膚抗菌ペプチドによる創傷治癒促進効果の検討

The Centre for Dermatology Research, Institute of Inflammation and Repair, University of Manchester

今西 明子

### 1. 研究の背景

皮膚科の臨床診療において慢性潰瘍に悩む患者は多く、速やかに効果を発揮する治療法が求められている。われわれは、新しい創傷治癒促進因子を得るために、カエルが優れた創傷治癒力を有することに着目した。カエル皮膚に生じた傷は瘢痕を形成することなく上皮化し、カエル皮膚の構造はヒトの皮膚と組織学的に類似している<sup>1</sup>。また、カエル皮膚には、多種の抗菌ペプチドや神経ペプチドが存在しており<sup>2</sup>、その一部では創傷治癒促進効果が報告されている<sup>3</sup>。

本研究では、カエル皮膚由来抗菌ペプチドの一種である *esculentin* による創傷治癒促進効果を検討した。*Esculentin* は、*Pelophylax lessonae/ridibundus* というカエルの皮膚から同定された抗菌ペプチドで、幅広い抗菌活性を有しており、ヒト皮膚における *cathelicidin* (LL-37) に相当する<sup>4,5</sup>。LL-37 は創傷治癒や血管新生を促進することが知られている。*Esculentin* は LL-37 と比較して、ヒト角化細胞に対する毒性が弱く、浸出液中においても高い抗菌活性を保持すると報告されており、臨床的により有益であると期待される。

### 2. 研究の方法

カエル (*Xenopus tropicalis*) の背部皮膚を採取し、大小の皮膚パンチを用いてドーナツ状に加工し、無血清培地にて培養した<sup>3</sup>。カエル皮膚から単離した *esculentin* を種々の濃度で組織培養液に加え、皮膚の中心に作成した創傷が再上皮化する過程を顕微鏡下で観察した。また、培養開始後、1, 3, 7 日目に標本を採取し、(免疫)組織学的に検討した。

さらに、HaCaT 細胞を *ibidi culture insert*®を用いて培養し(創傷治癒モデル)、*esculentin* を細胞培養液に加え、細胞遊走の様子を顕微鏡下で観察した。

### 3. 研究の結果

カエル皮膚組織培養において、*esculentin* 添加群は、コントロール群と比較して創傷の再上皮化を有意に促進した。HE 染色にて組織学的に検討したところ、*esculentin* 添加群において再生上皮の面積は有意に拡大していた。EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) を用いて再生上皮の増殖能を検討したが、*esculentin* 添加群において細胞増殖の促進は認められなかった。さらに、トルイジンブル

一染色を用いて肥満細胞を染色し、創傷辺縁における肥満細胞数を計測したところ、esculentin 添加群において肥満細胞数の増加傾向がみられた。

ヒト角化細胞培養において、esculentin 添加群は、コントロール群と比較して細胞遊走を有意に促進した。さらに、epithelial growth factor receptor (EGFR) 阻害剤で前処理した細胞では、その遊走は有意に阻害された。以上より、細胞遊走は EGFR 依存性であることが示唆された。

#### 4. 結論と今後の課題

Esculentin はカエル皮膚組織培養とヒト角化細胞培養において、創傷治癒を促進することを明らかにした。そのメカニズムには、細胞増殖ではなく、EGFR を介した細胞遊走が関与していると推測される。現在、より詳細な機序を解析するとともに、ヒト皮膚組織培養を用いて同様の研究を行っている。将来的には、創傷治癒促進効果と抗菌活性を併せ持つ新規外用剤として、esculentin を臨床に役立てたいと考えている。

以上の結果を、44<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research において発表した。

#### 5. 参考文献

- 1 Haslam IS, Roubos EW, Mangoni ML *et al.* From frog integument to human skin: dermatological perspectives from frog skin biology. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2013.
- 2 Mangoni ML. Host-defense peptides: from biology to therapeutic strategies. *Cell Mol Life Sci* 2011; **68**: 2157-9.
- 3 Meier NT, Haslam IS, Pattwell DM *et al.* Thyrotropin-releasing hormone (TRH) promotes wound re-epithelialisation in frog and human skin. *PLoS One* 2013; **8**: e73596.
- 4 Islas-Rodriguez AE, Marcellini L, Orioni B *et al.* Esculentin 1-21: a linear antimicrobial peptide from frog skin with inhibitory effect on bovine mastitis-causing bacteria. *J Pept Sci* 2009; **15**: 607-14.
- 5 Luca V, Stringaro A, Colone M *et al.* Esculentin(1-21), an amphibian skin membrane-active peptide with potent activity on both planktonic and biofilm cells of the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Cell Mol Life Sci* 2013; **70**: 2773-86.