

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2588 号

Carbon dioxide inhibits UVB-induced inflammatory response by activating the proton-sensing receptor, GPR65, in human keratinocytes

二酸化炭素は表皮角化細胞においてプロトン感受性受容体 GPR65 を活性化することで UVB 誘導性の炎症応答を抑制する

佐山 慧門 (さやま けいもん)

博士 (医学)

#### 論文内容の要旨

二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) は、人体において好気呼吸時に排出される主要なガス分子である。これまで、肺疾患の患者や動物モデルにおいて CO<sub>2</sub> は生体内における炎症応答を抑制することが明らかにされている。一方で皮膚においては、CO<sub>2</sub> はボーア効果や血管拡張作用により血液循環を改善することはよく知られているものの、皮膚炎症に対する知見は乏しく、その有効性や作用メカニズムは十分に理解されていない。そこで、本研究では、CO<sub>2</sub> の皮膚炎症に対する効果を明確化することを目的とし、ヒト表皮角化細胞やヒト皮膚における CO<sub>2</sub> の抗炎症作用を検証した。

In vitro において CO<sub>2</sub> の抗炎症作用を検討するため、表皮角化細胞を高濃度 CO<sub>2</sub> (15%) 条件下で培養した後、20mJ/cm<sup>2</sup> の紫外線 B 波 (UVB) を照射することで炎症を誘起させた。また、3 次元 (3D) 培養表皮上に CO<sub>2</sub> を含有した製剤を負荷することで、表皮内の pH 変化を多光子レーザー顕微鏡を用いて観察した。加えて、CO<sub>2</sub> による pH 低下による炎症応答への影響について、プロトン感受性 GPCR に着目して作用機序の解析を行った。最後に、健常男性 (日本人、20-50 歳、n=9) の上腕内側部に CO<sub>2</sub> を含有した製剤を負荷して UVB 誘導性の紅斑に対する効果を検討した。

高濃度 CO<sub>2</sub> 条件下で表皮角化細胞を培養すると、通常培養条件下 (5% CO<sub>2</sub>) と比較し UVB 誘導性の tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) や interleukin-6 (IL-6) の産生が有意に抑制された。また、3D 表皮を用いた検討から、CO<sub>2</sub> は表皮内に浸透すると、電離して H<sup>+</sup> を産生し細胞外 pH を低下させることが示唆された。そこで、表皮角化細胞において CO<sub>2</sub> による培地の pH 低下を抑制すると、TNF $\alpha$  や IL-6 の発現抑制が解除されたことから、CO<sub>2</sub> による炎症抑制作用は pH 低下を介していることが示唆された。加えて、表皮角化細胞において、CO<sub>2</sub> による pH 低下はプロトン感受性受容体の G protein-coupled receptor 65 (GPR65) によって感知され、細胞内伝達物質の一つである cyclic adenosine monophosphate (cAMP) を介して nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) 経路を抑制することが示唆された。CO<sub>2</sub> 含有製剤を用いた試験では、CO<sub>2</sub> がヒト皮膚における UVB 誘導性の紅斑を有意に抑制することが示された。

上記結果から、CO<sub>2</sub> は皮膚の炎症抑制に寄与するユニークなガス分子であることが考えられ、炎症・免疫機構の乱れを原因とする皮膚症状に対する適応が期待される。