

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成27年 4月15日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学  
職 名 大学院医学系研究科皮膚科学 講師  
研究代表者 茂木 精一郎

下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 14014)

1. 共同研究課題名	皮膚における Rab27 及びそのエフェクター分子の役割の解明			
2. 共同研究目的	マウスの皮膚から、表皮細胞や皮膚内常在性免疫細胞である樹状細胞を単離し、Rab27 関連分子の発現パターンを確認する。さらに、野生型マウスと各遺伝子欠損マウスとで、各細胞機能や、皮膚疾患モデルの表現型の比較検討を行うことで、皮膚における Rab27 関連分子の役割を明らかにする。			
3. 共同研究期間	平成 26年 4月 1日 ~ 平成 27年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
	氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者)	茂木 精一郎	医学系研究科 皮膚科学	講師	主任研究員
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	遺伝生化学		氏 名 泉 哲郎

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

メラノサイトにおけるメラニン輸送において Rab27a が必須であることはよく知られており、また、近年、皮膚表皮細胞に Rab27 エフェクター分子 Exophilin 5 が発現し、その遺伝子異常が皮膚表皮の脆弱性を誘導することが報告された。一方で、皮膚免疫細胞（樹状細胞やランゲルハンス細胞など）やケラチノサイトなど、メラノサイト以外の皮膚細胞における Exophilin5 以外の Rab27 関連分子の役割は、まだ不明な点が多い。本研究では、皮膚における Rab27 及びそのエフェクター分子の役割を解明する目的で、下記の研究を計画した。

### 1) 皮膚細胞を用いた検討:

表皮細胞、真皮細胞、及び真皮内樹状細胞など、皮膚に存在する各種細胞を野生型マウスから単離・精製し、各分子の発現レベルや細胞内局在を検討する。また、野生型マウスと各分子の遺伝子欠損マウスとで、単離した細胞の機能の違いを比較検討する。

### 2) マウスを用いた実験:

皮膚細胞で発現を認める分子に関して、皮膚疾患モデル(Th1型免疫応答により誘導される接触性皮膚炎モデルや創傷治癒モデル)における表現型を、野生型マウスと各分子の遺伝子欠損マウスとで比較検討する。

## 7. 共同研究の成果

本共同研究において、下記のように、皮膚での免疫応答における Rab27 関連分子の関与を示唆する所見を得た。

### 1) 皮膚細胞を用いた検討:

まず、マウスの皮膚を、数種類の蛋白分解酵素が含まれた培地に浸し、4℃で一晩インキュベートした後、ピンセットで表皮細胞を真皮細胞から剥離して、表皮細胞と真皮細胞とに分離した。真皮細胞全体は、異なる種類の細胞から構成されるヘテロな集団であるが、その構成細胞の一つである樹状細胞は、皮膚における免疫応答の制御において重要な働きをすることが知られている。当初、真皮細胞の単細胞懸濁液を作成し、そこから真皮内樹状細胞を単離することを試みたが、十分な細胞数が得られなかった為、マウス脾細胞から MACS 及び FACS ソーティングを用いて CD11c+樹状細胞を単離・精製した。こうして得られた各細胞分画における Rab27 エフェクター分子の発現を確認した。その結果、表皮細胞と樹状細胞のいずれにおいても、Rab27 アイソタイプとしては Rab27a 優位の発現を認め、その他、Rab27 エフェクター分子に関しても、表皮細胞における発現が既に報告されている Exophilin 5 を含め、複数の分子の発現を確認した。

なお、表皮細胞や樹状細胞における Rab27 関連分子の機能及びその細胞内局在に関しては、平成 26 年度には十分には解析できなかった為、平成 27 年度に引き続き行っていく予定である。

### 2) マウスを用いた実験:

前述の皮膚細胞で発現を認める分子に関して、Th1型免疫応答により誘導される接触性皮膚炎モデルにおける表現型を、野生型マウスと各分子の遺伝子欠損マウスとで比較検討した結果、一部の分子の遺伝子欠損マウスで、野生型と異なる表現型を認めた。

## 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

本研究成果は、現在、投稿準備中である。