

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2006～2008

課題番号：18790791

研究課題名（和文）

表皮角化細胞の増殖と血管内皮細胞増殖因子産生に及ぼす各種活性酸素の影響

研究課題名（英文）

The effects of reactive oxygen species on proliferation and vascular endothelial growth factor of epidermal keratinocytes

研究代表者

中井 浩三（NAKAI KOZO）

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40363204

研究成果の概要：昇圧作用を持つアンジオテンシン II が表皮角化細胞のスーパーオキシドという活性酸素産生と細胞増殖を促進した。表皮増殖因子のひとつ、HB-EGF が表皮角化細胞の一酸化窒素という活性酸素産生と血管内皮細胞増殖因子（VEGF）産生を促進し、細胞増殖も促進した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	800,000	0	800,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	300,000	3,000,000

研究分野：皮膚科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：表皮角化細胞、活性酸素、細胞増殖、血管内皮細胞増殖因子

## 1. 研究開始当初の背景

活性酸素により表皮角化細胞の増殖や血管内皮増殖因子の産生が変化するという報告があった。

## 2. 研究の目的

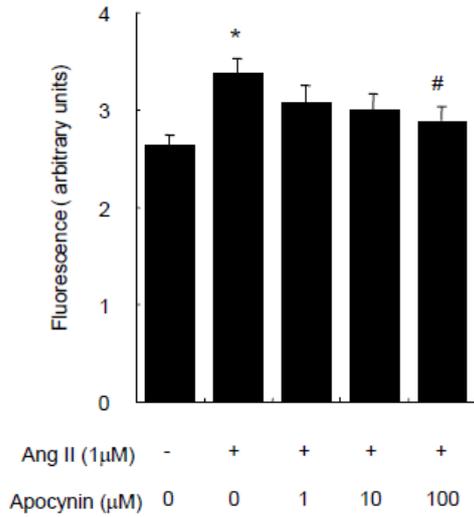
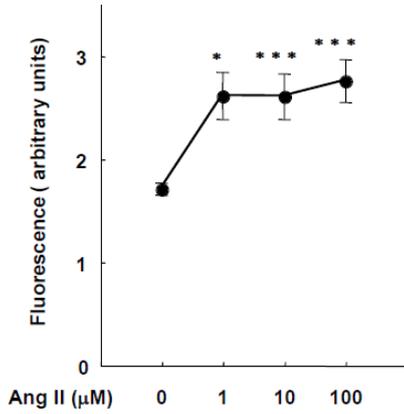
どのような活性酸素、または活性酸素の産生を促進する物質が表皮角化細胞の増殖や VEGF の産生に影響するか調べること。

## 3. 研究の方法

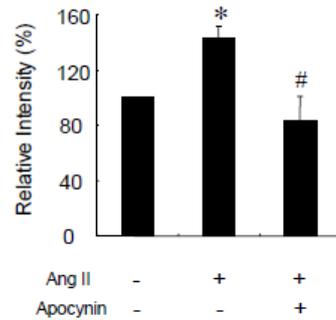
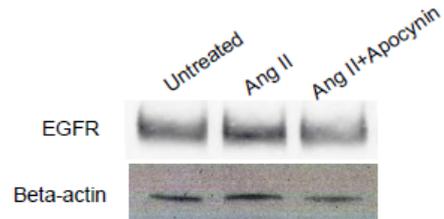
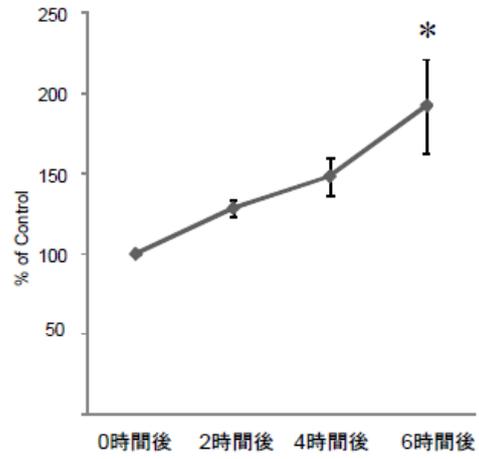
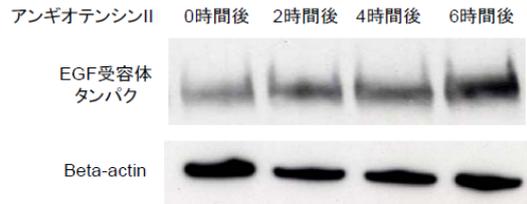
- ① 培養表皮角化細胞（HaCaT 細胞）を用いた。
- ② 細胞増殖の測定や VEGF の産生は市販のキットを用いて測定した。
- ③ 細胞増殖に関与するシグナル伝達物質とその活性化はウエスタンブロット法で調べた。
- ④ 活性酸素の発生は市販されている活性酸素と反応する蛍光物質を用いた。
- ⑤ 活性酸素の阻害剤を用いた。

4. 研究成果

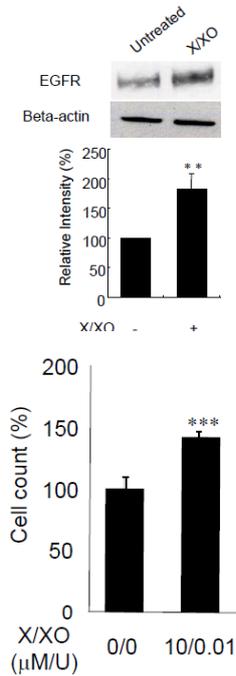
① 昇圧作用を持つアンギオテンシン II は HaCaT 細胞のスーパーオキシドの産生を増加させた。この増加が NADPH oxidase 由来であることが阻害剤 apocynin を用いて確認できた。



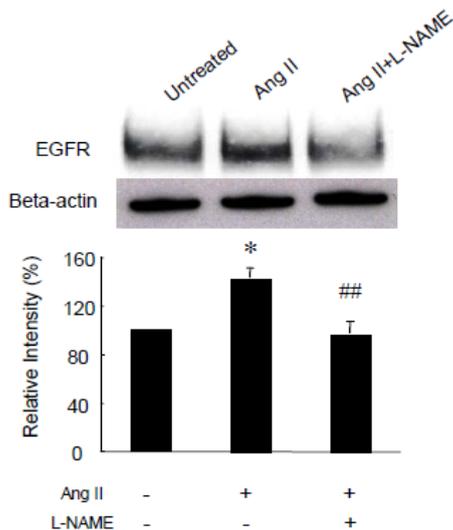
② アンギオテンシン II は HaCaT 細胞の EGF 受容体の発現を増加させた。その発現の増加は NADPH oxidase 由来のスーパーオキシドによるものと考えられた。



- ③ キサンチンオキシダーゼを用いた外因性スーパーオキシド産生系でも HaCaT 細胞の EGF 受容体発現は増加し、細胞増殖が促進された。



- ④ アンジオテンシン II による HaCaT 細胞の EGF 受容体発現の増加には一酸化窒素が必要であることが一酸化窒素合成酵素阻害剤である L-NAME を用いて分かった。



- ⑤ 表皮増殖因子のひとつ、HB-EGF は HaCaT 細胞の内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) を活性化し一酸化窒素産生を促進した。

- ⑥ HB-EGF は HaCaT 細胞の VEGF 産生も促進した。

- ⑦ HB-EGF は HaCaT 細胞の細胞増殖も促進した。

- ⑧ 皮膚科領域で活性酸素に着目した研究は国内外で希であり、新しい皮膚の病態生理学的知見が得られた。血管内皮細胞増殖因子産生や表皮細胞増殖が関連する尋常性乾癬などの皮膚疾患や創傷治癒の新たな治療への応用が期待される。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Kozo Nakai, Angiotensin II enhances EGF receptor expression levels via ROS formation in HaCaT cells, Journal of Dermatological Science, 51, 181-189, 2008, 有

[学会発表] (計 3 件)

- ① Kozo Nakai, Angiotensin II enhanced EGF receptor expression in HaCaT cells, SFRBM 14<sup>th</sup> annual meeting, 2007 年 11 月 16 日, Washington DC USA
- ② Kozo Nakai, Angiotensin II enhanced EGF receptor expression in HaCaT cells, International Investigative Dermatology 2008, 2008 年 5 月 16 日, Kyoto Japan

- ③ 中井浩三、アンギオテンシンIIはHaCaT細胞の活性酸素産生を増やしてEGF受容体の発現を増加させる、第15回四国四大学皮膚科研究会、2008年6月21日、高知 日本

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中井 浩三 (NAKAI KOZO)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40363204