

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06699

研究課題名（和文）アルミニウム化合物の侵害受容体TRPチャンネルに着目した疼痛・炎症への影響解明

研究課題名（英文）Clarification of effect of aluminum focusing on TRP channels as nociceptors

研究代表者

藤田 郁尚（Fujita, Fumitaka）

大阪大学・薬学研究科・招へい准教授

研究者番号：70600097

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：アルミニウムの状態の違いによる侵害受容性TRPチャンネルであるTRPV1、TRPA1への影響をパッチクランプ法及びカルシウムイメージング法によって確認し、アルミニウムイオンがTRPV1、TRPA1の活性抑制効果を示すことを明らかにした。また、また、pH4、6、7.4の条件において硫酸アルミニウムカリウムのTRPV1、A1の抑制効果を調べたところ、酸性pHにおいて観察される高い抑制効果は中性pHでは減弱するものの、中性条件においても抑制効果を確認することが出来た。更に、ヒト被験者への硫酸アルミニウムカリウム水溶液（酸性pH）を毎日一回の使用を一ヶ月続けた結果、皮膚水分量の上昇が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アルミニウムは溶液の状態によってコロイドとイオンに変化するが、イオン状態（酸性状態）のアルミニウムが痛み受容体であるTRPV1、TRPA1の活性を共に抑制することを見出した。アルミニウム化合物はワクチンアジュバントとして広く利用されており、この発見は痛みの少ないワクチンの開発や、新規鎮痛剤の開発に展開出来る。また本発見は、明礬温泉（大分）などアルミニウム含有温泉のより効果的な活用方法の提案にも繋がり、入浴剤や、化粧品などの外用剤にも展開可能であると考えている。

研究成果の概要（英文）：To confirm what statement aluminum affect TRPV1 or TRPA1, we performed patch clamp and ca-imaging experiment, resulting in finding inhibitory effect of aluminum ion on TRPV1 and TRPA1 activity. In addition, we also found aluminum potassium sulfate at pH4, 6 and 7.4 inhibited TRPV1 and TRPA1. However inhibitory effect of aluminum ion is lower at neutral pH than acidic pH. Furthermore, continuous application of solution of aluminum potassium sulfate at acidic pH increased water content of skin surface of human subject.

研究分野：生理学

キーワード：TRPV1 TRPA1 アルミニウム

1. 研究開始当初の背景

アルミニウムは古くから医療に用いられている金属であるが、その分子メカニズムには不明な点が多い。多くのワクチンには、その効果を増幅するためのアジュバントとして、また、胃薬には胃粘膜を保護する役割で、アルミニウム化合物が配合されている。これらの用途はコロイドとしてのアルミニウムの特性(水に不溶、細胞から DAMPS を放出)からメカニズムが理解されているため、イオン化したアルミニウムに関する生体への影響については不明な点が多かった。

2. 研究の目的

最近の研究から、痛みや炎症に関与する侵害刺激受容体である TRP チャンネルが、金属イオンにより、その活性に影響を受けることが明らかになってきた。本研究では、これら TRP チャンネルに着目し、ワクチン、経口薬、または外用薬として体内に取り込んだアルミニウムイオンがイオンチャンネルを通じて炎症や痛みどのように関与するのかを明らかにすることを目的とする。本研究の知見は、より効果的で安全なアルミニウムの医薬品応用を可能にするものである。

3. 研究の方法

感覚神経に発現する TRP チャンネルへの影響の解明:種々の pH 条件下におけるアルミニウム塩の TRPV1 及び TRPA1 活性の影響をパッチクランプ法、カルシウムイメージング法の電気生理学的手法により明らかにする。さらに表皮角化細胞における TRP チャンネルへの影響と皮膚への影響の解明:アルミニウム塩の TRPV3 及び TRPV4 への影響を解明すると同時に、外用による炎症への影響をヒト皮膚片及びヒト被験者により解明を目指した。

4. 研究成果

アルミニウムの状態の違いによる侵害受容性 TRP チャンネルである TRPV1、TRPA1 への影響をパッチクランプ法及びカルシウムイメージング法によって確認した。その結果、硫酸アルミニウムカリウムは pH4 の条件において TRPA1 を濃度依存的に抑制することを明らかにすることが出来た。また、pH4、6、7.4 の条件において硫酸アルミニウムカリウムの TRPV1、A1 の抑制効果を調べたところ、酸性 pH において観察される高い抑制効果は中性 pH では減弱するものの、中性条件においても抑制効果を確認することが出来た。しかし、アジュバントに用いられる水酸化アルミニウム及びリン酸アルミニウムのコロイド溶液は中性条件において TRPV1、A1 活性に対する抑制効果が観察されなかった。つまり、酸性条件化において塩化アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウムから解離したアルミニウムイオンが TRPV1 及び TRPA1 の活性を抑制している可能性が示された。また、表皮角化細胞に発現する TRPV3、V4 について、カルシウムイメージング法及びパッチクランプ法によって酸性条件下の抑制効果は確認されたものの、中性条件においては

抑制効果が観察されなかった。

コロイド状態のアルミニウムについて TRPA1、TRPV1 への作用がないことをパッチクランプ法にて確認した。また、pH 依存的に硫酸アルミニウムカリウムのコロイド粒子が大きくなることをゼータ電位計により確認し、中性であるほどコロイド粒子の平均粒子径が大きくなっていた。つまり、これまでの結果と合わせると、硫酸アルミニウムカリウムはコロイド粒子では TRPA1、V1 に反応しないため、イオンが非常に少ない中性 pH では TRPA1、V1 抑制効果が低く、酸性 pH ではイオン濃度が高く TRPA1、V1 活性抑制効果が高くなったと考えられる。

アルミニウムイオンによる TRPA1、V1 の抑制効果が、硫酸アルミニウムカリウムだけでなく、硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムナトリウムでも同様に確認された。また、明晩温泉に含まれる金属イオンについては TRPA1、V1 を抑制する効果がないことを確認した。また、TRPA1 の抑制作用の IC50 値が 103 μ M であることを確認し、TRPV1 の抑制作用 (IC50 値が 246 μ M) より強いことを確認した。さらに、アルミニウムイオンによる TRPM4 の活性化シングルチャネル電流が、既報告と同様であることを確認できた。

また、アルミニウムイオンは表皮角化細胞に発現する温度感受性 TRP チャネルの TRPV3 及び V4 に影響を及ぼさない結果をカルシウムイメージング、及び、パッチクランプ法を用いて得られていたが、TRPM4 には活性化させる作用があることを見出している。そこで、表皮ケラチノサイトを重層化させて 3 次元培養皮膚へのアルミニウムイオンの作用と、皮膚温度の関係を調べるため表皮の環境温度を模した培養システムを構築した。そのシステムを用いることによって、培養皮膚の基底膜が浸されている底部温度と、空気に暴露されている表層の温度勾配を 5 度以上設定することが出来る。その培養システムによって、より皮膚環境に近い条件において、表皮の分化マーカーの発現が全て 37 度の条件とは異なってくるのが分かってきた。

更に、ヒト被験者への硫酸アルミニウムカリウム水溶液 (酸性 pH) を毎日一回の使用を一ヶ月続けた結果、皮膚の状態が向上する傾向が得られた。期待された皮膚バリア機能の向上は見られなかったが、水分量についてはアルミニウム連用による効果が得られた。さらに、毛穴の収斂効果や、肌の色の明色化も確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田郁尚、鈴木喜朗、齋藤香織、高石雅之、岡田文裕、富永真琴、石井健
2. 発表標題 Aluminum ion blocks hTRPV1 and hTRPA1 activities.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会（誌面開催）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田郁尚
2. 発表標題 皮膚感覚の分子メカニズムとその応用
3. 学会等名 第44回 MGK（毛髪科学技術協会）西日本学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田郁尚
2. 発表標題 皮膚感覚の分子メカニズムとその応用
3. 学会等名 第53回SCCJ（化粧品技術者会）セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田郁尚
2. 発表標題 温度感受性受容体に着目した、皮膚感覚を制御する機能性化粧品の開発
3. 学会等名 日本薬学会 第139年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 TRPチャンネル活性抑制剤	発明者 藤田郁尚、齋藤香 織、岡田文裕、石井 健	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018 - 064969	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------