

# 様式 C-19

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790790

研究課題名 (和文) 表皮のリモデリングによる発癌抑制メカニズム

研究課題名 (英文) Suppression of tumorigenesis by epidermal remodeling

研究代表者

大日 輝記 (DAINICHI TERUKI)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：20423543

研究成果の概要：紫外線発癌モデルマウスにおけるサリチル酸マクロゴールピーリングによる発癌抑制が、シクロオキシゲナーゼ阻害による直接作用であることを否定した。機械的ストレスシグナル伝達物質のひとつである活性化 ERK の発現が施術により変化することを示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	390,000	3,290,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：皮膚腫瘍学

キーワード：ケミカルピーリング、紫外線、角化細胞

### 1. 研究開始当初の背景

ケミカルピーリングは、光老化を起こした皮膚を若返らせ、美容的外観を改善する臨床的手技として用いられているが、光発癌にどのように影響を及ぼすかは知られていなかった。我々は、光老化、光発癌の動物モデルである紫外線照射ヘアレスマウスを用いて、サリチル酸マクロゴールピーリングが光発癌を抑制、減少させることを示した (Dainichi, et al. *Br J Dermatol* 2003; **148**: 906)。さらに我々は、サリチル酸マクロゴールピーリングが、ヒトおよびマウスで表皮をリモデリングすること、マウスで異常な p 53 の発現を正常化させることを示した (Dainichi, et al. *J Invest Dermatol* 2006; **124**: 416)。

角化細胞の分化が、細胞が強いられた形によって誘導されることは、試験管内では古くから示されている (Watt, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; **85**: 5576)。一方、近年、ヒトの乳癌細胞で、細胞外基質の硬さ (牽引応力) が、インテグリンレセプターを介して悪性度 (増殖、形態等) を高めることが示された (Paszek, et al. *Cancer Cell* 2005; **8**: 241)。

### 2. 研究の目的

今回、我々は、ピーリングによる表皮のリモデリングが、角化細胞の機械的ストレス環境を修飾することで皮膚発癌抑制に関わる可能性を検討した。

### 3. 研究の方法

#### 1) シクロオキシゲナーゼ阻害作用による発癌抑制の否定

サリチル酸自体のシクロオキシゲナーゼ阻害作用による発癌抑制を否定する目的で以下の実験を行った。

① ヘアレスマウス (Skh/HR1) で、表皮プロスタグランディン E 2 の粗精製および ELISA による表皮プロスタグランディン E 2 の定量系を確立した。

② マウスに UVB を照射後にサリチル酸マクロゴールピーリングを施行し、表皮で誘導されるプロスタグランディン E 2 産生を経時的に定量した。サリチル酸マクロゴールピーリングが、角化細胞でのプロスタグランディン E 2 合成を阻害しないことを証明した。

#### 2) インテグリンおよびそのシグナル伝達物質の発現評価

角化細胞における機械的ストレス受容体としてのインテグリンのシグナル伝達物質の活性化を、加齢マウス、紫外線照射マウスおよびヒトの前癌状態 (日光角化症)、有棘細胞癌で評価した。

① 若年マウスと加齢マウスに対してサリチル酸マクロゴールピーリングを施行し、インテグリンレセプターの下流および交叉シグナル伝達物質である ERK, FAK の発現および活性化を、免疫組織化学で評価した。また UVB を 20 週間照射したヘアレスマウスの表皮で、ERK, FAK のリン酸化を評価した。さらに、サリチル酸マクロゴールピーリングを施行した場合の影響を評価した。

② ヒトの日光角化症および有棘細胞癌の検体で、インテグリンレセプターの下流および交叉シグナル伝達物質である ERK, FAK の発現および活性化を、免疫組織化学で評価した。

#### 3) ケミカルピーリングと表皮の機械的ストレスの変化

ケミカルピーリングを反復的に行った場合の、表皮の 3 次元構築に与える影響を、ヒト皮膚のレプリカ解析とラット足底の連続切片で評価した。

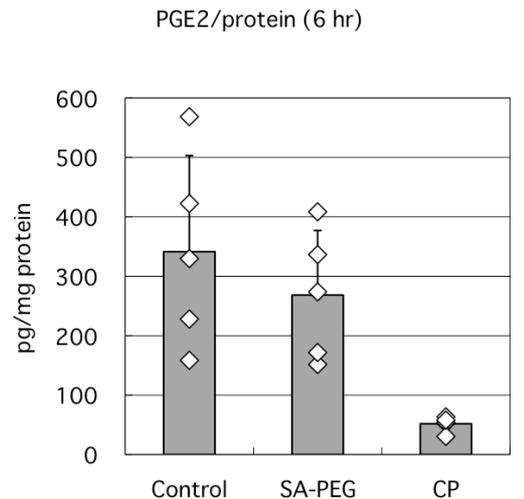
#### 4) ケミカルピーリングによるアトピー性皮膚炎の治療

ケミカルピーリングが皮膚炎に対して与える影響を、皮膚炎モデルマウスおよびアトピー性皮膚炎患者で評価した。

### 4. 研究成果

#### 1) シクロオキシゲナーゼ阻害作用による発癌抑制の否定

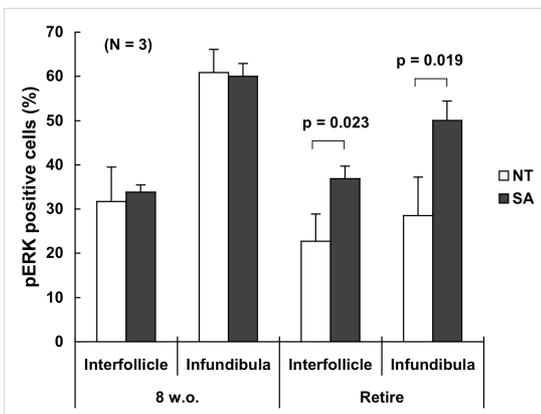
我々は、サリチル酸自体の薬理作用による発癌抑制を否定するため、まずマウスで、表皮プロスタグランディン E2 の定量系を確立した。次に、紫外線照射により表皮にプロスタグランディン E2 を誘導したマウスで、サリチル酸マクロゴールピーリングは角化細胞のプロスタグランディン E2 合成を阻害しないことを証明した (未発表)。



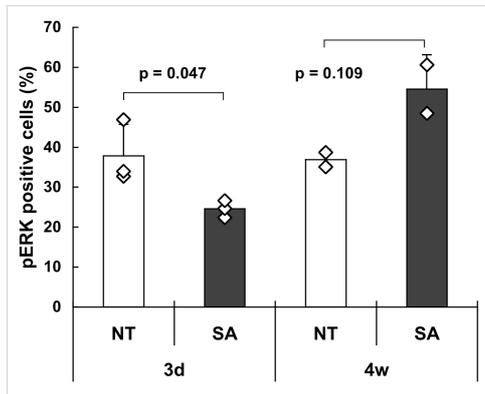
SA-PEG: ピーリング群  
CP: プロピオン酸クロバタゾール

#### 2) インテグリンおよびそのシグナル伝達物質の発現評価

角化細胞における機械的ストレス受容体としてのインテグリンのシグナル伝達が、ケミカルピーリングによる表皮のリモデリングで変化するかどうかを、紫外線照射マウスで評価した。インテグリンレセプターの下流の各種シグナル伝達物質、転写因子の活性化を免疫組織化学で評価した。その結果、加齢マウスでは施術 6 時間後に紫外線照射マウスではピーリングにより ERK のリン酸化が若年マウスと同等まで増加した。



紫外線照射マウスでは施術の3日後に一時低下した後、4週間後に亢進することが示された（未発表）。



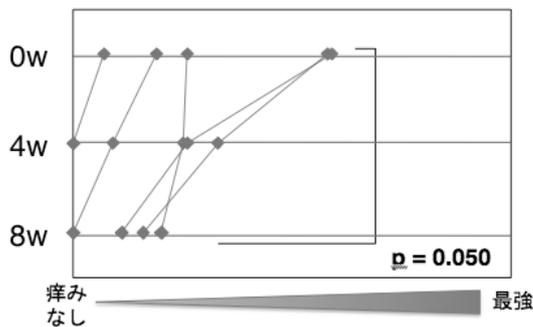
紫外線によって生じた前癌病変である日光角化症 10 例および有棘細胞癌 12 例の病変部における FAK のリン酸化を免疫組織化学的に評価したが、一定の傾向はなかった。

### 3) ケミカルピーリングと表皮の機械的ストレスの変化

ケミカルピーリングを単回施行した健康人の皮膚紋理のパターンを経時的に定量的に観察した。その結果、施術の4週間後の皮膚紋理の明瞭化を有意に認め、表皮の力学的環境の変化が示唆された。しかしながら、ラット足底皮膚の表皮梁の深さおよび間隔に大きな変化はなかった（未発表）。

### 4) ケミカルピーリングによるアトピー性皮膚炎の治療

皮膚炎モデルマウスにおいて、ケミカルピーリングで炎症が軽減した。アトピー性皮膚炎患者において、ケミカルピーリングによって痒み、外用量が明らかに減少した（未発表）。



### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 22 件）

1. Dainichi T, Kawaguchi A, Ueda S, Tajiri R, Fumimori T, Kakuta T, Hashimoto T. Skin tightening effect by a fractional laser treatment I: A randomized half-side pilot

study on faces of acne patients. *Dermatol Surg*, in press. (査読有)

2. Dainichi T, Ueda S, Fumimori T, Kiryu H, Hashimoto T. Skin tightening effect by a fractional laser treatment II: a pilot animal study on skin remodeling. *Dermatol Surg*, in press. (査読有)
3. Nakamura A, Dainichi T, Tomoeda H, Moroi Y, Urabe K, Furue M, Uenotsuchi T. Phototherapy for mycosis fungoides in a patient with coincident systemic lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol*, in press (査読有)
4. Imada K, Dainichi T, Yokomizo A, Tsunoda T, Song YH, Nagasaki A, Sawamura D, Nishie W, Shimizu H, Fukagawa S, Urabe K, Furue M, Hashimoto T, Naito S. Birt-Hogg-Dubé syndrome with clear-cell and oncocytic renal tumour and trichoblastoma associated with a novel FLCN mutation. *Br J Dermatol*, in press. (査読有)
5. Tanaka N, Dainichi T, Ohyama B, Yashimoto S, Oono T, Iwatsuki K, Elfert S, Fritsch A, Bruckner-Tuderman L, Hashimoto T. A case of epidermolysis bullosa acquisita with clinical features of Brunsting-Perry pemphigoid showing an excellent response to colchicine. *J Am Acad Dermatol*; in press (査読有)
6. Dainichi T, Ohyama B, Ishii N, Yamaguchi Z, Yasumoto S, Hashimoto T. Refractory oral ulcers with multiple IgG/IgA autoantibodies without skin lesions. *J Am Acad Dermatol*; in press (査読有)
7. Arakawa M, Dainichi T, Yasumoto S, Hashimoto T. Lesional Th17 cells in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Dermatol Sci* 2009; **53**: 228-31 (査読有)
8. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Sanzen N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Koga H, Karashima T, Yasumoto S, Zillikens D, Sekiguchi K, Hashimoto T. Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 2800-5 (査読有)
9. Yasukawa S, Dainichi T, Kokuba H, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, Furue M. Bullous pemphigoid followed by pustular psoriasis showing immunological dynamics among Th1, Th2, Treg and Th17. *Eur J Dermatol* 2009; **19**: 69-71 (査読有)
10. Dainichi T, Moroi Y, Duan H, Urabe K, Koga T, Miyazono M, Sasaki T, Hashimoto T, Furue M. Paraneoplastic acanthosis nigricans accompanied by silent

- meningioma producing transforming growth factor-alpha. *Eur J Dermatol* 2008; **18**: 721-2 (査読有)
11. Chen SY, Takeuchi S, Urabe K, Hayashida S, Kido M, Tomoeda H, Uchi H, Dainichi T, Takahara M, Shibata S, Tu YT, Furue M, Moroi Y. Overexpression of phosphorylated-ATF2 and STAT3 in cutaneous angiosarcoma and pyogenic granuloma. *J Cutan Pathol* 2008; **35**: 722-30 (査読有)
  12. Dainichi T, Omori M, Hamada M, Hosokawa C, Moroi Y, Hashimoto T, Furue M. Successful treatment of nail bed hypoplasia following nail loss by acrylic nail. *Dermatol Surg* 2008; **34**: 984-5 (査読有)
  13. Dainichi T, Ueda S, Imayama S, Furue M. Excellent clinical results with a new preparation for chemical peeling in acne: 30% salicylic acid in polyethylene glycol vehicle. *Dermatol Surg* 2008; **34**: 891-9 (査読有)
  14. Dainichi T, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, Furue M. Vitiligo onset removes congenital nevocellular nevus cells. *J Dermatol Sci* 2008; **51**: 66-9 (査読有)
  15. Dainichi T, Ueda S, Furue M, Hashimoto T. By the grace of peeling: the brace function of the stratum corneum in the protection from photo-induced keratinocyte carcinogenesis. *Arch Dermatol Res* 2008; **300**: s31-8 (査読有)
  16. Dainichi T, Honma Y, Hashimoto T, Furue M. Clavus detected incidentally by positron emission tomography with computed tomography. *J Dermatol* 2008; **35**: 242-3 (査読有)
  17. Chen SY, Takeuchi S, Urabe K, Kido M, Hayashida S, Tomoeda H, Uchi H, Dainichi T, Takahara M, Shibata S, Furue M, Moroi Y, Tu YT. Overexpression of phosphorylated ATF2 and STAT3 in eccrine porocarcinoma and eccrine poroma. *J Dermatol Sci* 2008; **49**: 170-3 (査読有)
  18. Liu H, Takeuchi S, Moroi Y, Lin N, Urabe K, Kokuba H, Imafuku S, Dainichi T, Uchi H, Furue M, Tu Y. Expression of minichromosome maintenance 5 protein in proliferative and malignant skin diseases. *Int J Dermatol* 2007; **46**: 1171-6 (査読有)
  19. Dainichi T, Kobayashi C, Fujita S, Shiramizu K, Ishiko T, Kiryu H, Urabe K, Tsuneyoshi M, Furue M. Interdigital amelanotic spindle-cell melanoma mimicking an inflammatory process due to dermatophytosis. *J Dermatol* 2007; **34**: 716-9 (査読有)
  20. Lin N, Uchi H, Moroi Y, Fukiwake N, Dainichi T, Takeuchi S, Takahara M, Tu Y, Furue M, Urabe K. Significance of the expression of phosphorylated signal transducer and activator of transcription-3, -Akt, and -cyclin D1 in angiosarcoma. *J Dermatol Sci* 2007; **48**: 64-6 (査読有)
  21. Lin N, Moroi Y, Uchi H, Fukiwake N, Dainichi T, Takeuchi S, Takahara M, Tu Y, Furue M, Urabe K. Significance of the expression of phosphorylated-STAT3, -Akt, and -ERK1/2 in several tumors of the epidermis. *J Dermatol Sci* 2007; **48**: 71-3 (査読有)
  22. Enjoji M, Dainichi T, Gondo H, Urabe K. Cutaneous reactions induced by pegylated-interferon plus ribavirin combination therapy in a patient with chronic hepatitis C. *Fukuoka Igaku Zasshi* 2007; **98**: 353-6 (査読有)
- [学会発表] (計 12 件)
1. 大日輝記. 薬疹と遺伝. 第 107 回日本皮膚科学会総会・学術大会教育講演、2008 年 4 月 18-20 日、京都市.
  2. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Sanzen N, Karashima T, Yasutomo S, Sekiguchi K, Zillikens D, Hashimoto T. Autoantigen in anti-p200 pemphigoid. 2008 International Meeting on Autoimmune Bullous Diseases, Invited Lecture. May 18-19, 2008, Otsu, Japan.
  3. 大日輝記, 上田説子, 田尻力也, 文森健明, 桐生美磨, 橋本隆. フラクショナルレーザーによるフェイスリフト効果. 第 26 回日本美容皮膚科学会総会・学術大会. 2008 年 8 月 30-31 日、大阪市.
  4. 大日輝記, 上田説子, 古江増隆, 橋本隆. アトピー性皮膚炎に対するケミカルピーリングの効果. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2008 年 6 月 12-14 日、東京都.
  5. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Sanzen N, Karashima T, Yasutomo S, Sekiguchi K, Zillikens D, Hashimoto T. Laminin-gamma1 is a major autoantigen in anti-p200 pemphigoid. International Investigative Dermatology 2008. May 14-17, 2008, Kyoto, Japan.
  6. 荒川正崇, 大日輝記, 橋本隆. 天疱瘡における Th17 の免疫組織化学的評価. 第 11 会九州基礎皮膚科研究会、2007

- 年 12 月 8 日、福岡市.
7. 田中倫子、大山文悟、大日輝記、安元慎一郎、橋本隆、大野貴司、岩月啓氏。  
VII 型コラーゲンに反応し、コルヒチンが著効した Brunsting-Perry 型類天疱瘡様後天性表皮水疱症。第 59 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2007 年 10 月 27-28 日、宮崎市。
  8. Dainichi T, Amano S, Matsunaga Y, Iriyama S, Hirao T, Hariya T, Hibino T, Katagiri C, Takahashi M, Ueda S, Hashimoto T, Furue M. Chemical peeling normalizes keratinization and suppresses pre-malignant change in photo-damaged skin. 68th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology. May 9-12 2007, Los Angeles, USA
  9. 大日輝記、城戸真希子、筑波隆幸、山本健二、古江増隆。皮膚バリア機能および免疫応答におけるカテプシン E の役割。第 106 回日本皮膚科学会総会・学術大会、2007 年 4 月 20-22 日、横浜市。
  10. 大日輝記、今田憲二郎、角田俊之、澤村大輔、占部和敬、古江増隆。Birt-Hogg-Dube 症候群と考えた症例。第 106 回日本皮膚科学会総会・学術大会、2007 年 4 月 20-22 日、横浜市。
  11. 中村暁子、友枝裕人、大日輝記、上ノ土武、師井洋一、古江増隆。全身性エリテマトーデスに菌状息肉症を併発し、光線療法が奏功した 1 例。第 106 回日本皮膚科学会総会・学術大会、2007 年 4 月 20-22 日、横浜市。
  12. 大日輝記。アトピー性皮膚炎へのサリチル酸マクロゴールピーリング 角層正常化による側面より。第 106 回日本皮膚科学会総会・学術大会、2007 年 4 月 20-22 日、横浜市。

〔図書〕(計 3 件)

1. 大日輝記。マウスからのメッセージ。ケミカルピーリング これが私のコツと技。2009 年 2 版。古川福実、船坂陽子、上田説子編。南山堂、2009 年 4 月 21 日
2. 大日輝記。美容治療は皮膚癌の発生を予防できるか? Monthly Book Derma 増刊号・メスを使わない美容治療実践マニュアル。山本有紀編。全日本病院出版会、2008 年 10 月 1 日、pp.167-71
3. 大日輝記。ケミカルピーリングによる角化の正常化。WHAT'S NEW in 皮膚科学。宮地良樹編。メディカルレビュー社、2007 年 12 月 31 日。pp.36-7

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/derm/index.htm>

6. 研究組織

(1)研究代表者

大日輝記 (DAINICHI TERUKI)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：20423543