

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 10日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791084

研究課題名（和文） 外来異物に対する皮膚反応における TRPV1 の役割の解明

研究課題名（英文） Role of TRPV1 on skin reactions to foreign subjects

研究代表者

上中 智香子 (KAMINAKA CHIKAKO)

和歌山県立医科大学 医学部 助教

研究者番号：70433357

研究成果の概要（和文）：

TRPV1 はマウス表皮角化細胞に発現し、ランゲルハンス細胞には発現を認めなかった。皮膚にトリクロロ酢酸を塗布した後の角化細胞傷害は TRPV1 に依存しないが、成長因子や炎症性サイトカインの産生は TRPV1 に依存し、出現する潰瘍は TRPV1 欠失によって拡大し治癒も遅延した。一方、ハプテン誘発接触皮膚炎は TRPV1 欠失によって増悪し、細胞移入実験によってその違いが惹起相によることが示された。

研究成果の概要（英文）：

TRPV1 expression was detected in murine epidermal keratinocytes, but not in Langerhans cells. After application of trichloroacetic acid on the skin, cytotoxicity on keratinocytes was not, but production of growth factors and some cytokines was dependent on TRPV1, and more severe ulceration with delayed healing was observed in TRPV1-deficient mice. On the other hand, hapten-induced contact dermatitis became more severe in the absence of TRPV1 and, by adoptive transfer experiments, the elicitation phase was shown to be responsible for the difference.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：TRPV1、アレルギー性接触皮膚炎、CGRP

1. 研究開始当初の背景

和歌山県立医科大学皮膚科学教室では、トリクロロ酢酸（TCA）を用いたケミカルピーリングにおいて、表面から酸を外用することによって表皮、真皮を壊死させると同時に表皮細胞から種々の成長因子やサイトカインの産生も促し創傷治癒に働きかけること

を報告した（Yonei N, et al. 2007）のをはじめ、ケミカルピーリングの臨床的・基礎的なエビデンスの確立に尽力してきた。これらの作用のキーとなるのが、熱や酸のほか痛みやかゆみの受容に関わる侵害受容体として近年脚光を浴びている Transient receptor potential vanilloid 1（TRPV1）であること

が示唆され、ケミカルピーリングとはこの侵害受容体を介したシグナルを適切にコントロールしてよりきれいな皮膚の再生を促すことと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、ケミカルピーリングにとどまらず、外来抗原に対する過敏性皮膚症である一次刺激性、アレルギー性接触皮膚炎をモデルに、特に体表を覆うバリアとしての表皮細胞と、免疫系におけるセンチネルとして末梢に分布する樹状細胞における TRPV1 の発現の有無と侵害応答における役割を検討することにより、外来異物に対する皮膚反応における TRPV1 の基礎的な役割を明らかにするとともに、その制御を目指す。

3. 研究の方法

正常マウスの脳を陽性コントロールに、TRPV1 欠失マウスの組織を陰性コントロールに、マウス皮膚、表皮における TRPV1 の発現を RT-PCR によって検討した。さらに抗 TRPV1 抗体を用いた免疫染色（免疫組織科学、蛍光二重染色）によって、マウス皮膚、表皮シートにおける TRPV1 発現細胞をさらに詳細に検索した。

マウス足底の皮膚に 40% TCA を塗布した後の細胞障害を TUNEL 法で、各種成長因子・サイトカインの産生を RT-PCR と免疫組織染色にて検討し、さらに背部皮膚に塗布した後の潰瘍形成と創傷治癒過程を検討し、TRPV1 欠失マウスとコントロール C57BL/6 マウスで比較した。

ハプテンとしてジニトロクロロベンゼン (DNCB) ・塩化ピクリルとその溶媒であるアセトン・オリーブ油を用い、マウス耳介への感作後・惹起後・週 1 回ずつ 4 回反復塗布後の変化について、肉眼的腫脹をインジケータで、表皮の肥厚や浸潤細胞数を組織学的に、各種サイトカインやケモカインの産生を RT-PCR と免疫組織染色にて経時的に検討し、TRPV1 欠失マウスとコントロール C57BL/6 マウスで比較した。各マウスの皮膚、リンパ節、脾臓から単離した細胞、骨髄から rGM-CSF で誘導した樹状細胞の表現型を FACS で解析し比較した。DNCB で感作後惹起前の各マウスから単離した皮膚リンパ節・脾臓細胞を別の TRPV1 欠失マウスに経静脈的に投与して惹起し、耳介腫脹を比較した。DNCB で感作・惹起した後の局所でのカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 、プロオピオメラノコルチン (POMC) 関連ペプチドの産生を RT-PCR と免疫組織染色にて経時的に検討し比較した。

4. 研究成果

まず TRPV1 のマウス皮膚と表皮での発現

を RT-PCR で、さらに角化細胞での発現を免疫組織染色で確認した。皮膚に TCA を塗布した場合、表皮角化細胞の TUNEL 陽性化は TRPV1 の有無によって差がなかったが、角化細胞からの成長因子や一部の炎症性サイトカインの産生は TRPV1 に依存していた。背部皮膚に塗布した後に形成される潰瘍は、TRPV1 欠失マウスにおいてより大きくなり、治癒も遅延した。すなわち TRPV1 は TCA を介した表皮角化細胞からの成長因子や炎症性サイトカインの産生を介して創傷治癒を促進していると考えられた。以上の内容を論文にまとめ、発表した (Li HJ, Kaminaka C, et al. *Eur J Dermatol* in press)。

一方、DNCB と塩化ピクリルによるアレルギー性接触皮膚炎はいずれも TRPV1 欠失によって増悪し、反復塗布によってさらに増悪した。免疫細胞、特に樹状細胞における TRPV1 の役割が予想されたが、骨髄由来樹状細胞の検討では TRPV1 欠失マウス由来細胞に分化、機能的な差異は認めず、表皮シートの MHC class II との二重染色により、TRPV1 が表皮ランゲルハンス細胞に発現しないことも確認された。細胞移入実験において、TRPV1 欠失マウスで感作された皮膚リンパ節・脾臓細胞をコントロールマウスに移入して惹起しても、コントロールマウス同士で移入した場合と同様であったことから、TRPV1 欠失マウスにおける接触皮膚炎の増悪は惹起相の反応の違いによることが明らかになった。免疫組織染色により TRPV1 陽性末梢神経における CGRP と表皮細胞における POMC 産生の経時的推移を検討したが、TRPV1 の有無による違いは認めていない。

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 13 件)

1. Hong-jin Li, Nobuo Kanazawa, Ayako Kimura, Chikako Kaminaka, Nozomi Yonei, Yuki Yamamoto, Fukumi Furukawa: Severe ulceration with impaired induction of growth factors and cytokines in keratinocytes after trichloroacetic acid application on TRPV1-deficient mice. *Eur J Dermatol* (in press)

2. 上中智香子、豊澤聖子、米井 希、国本佳代、古川福実、山本有紀：フェノールによる日光角化症とボーエン病に治療効果とケモカインレセプターに関する免疫組織化学的検討。 *Ski Cancer* 26: 327-332, 2012

3. Yuki Yamamoto, Chikako Kaminaka, Nozomi Yonei, Fukumi Furukawa:

Preliminary trial of phenol peels for superficial basal cell carcinoma, *Aesthet Dermatol* 21: 28-31, 2011

4. 山本有紀、上中智香子、上出三起子、古川福実：老人性乾皮症患者における高圧乳化ワセリン製剤 DR x AD の皮膚所見に対する効果、*日本美容皮膚科学会雑誌* 21: 42-49, 2011

5. 上中智香子、山本有紀：早期皮膚癌のフェノールを用いたピーリング療法、*日本医事新報*: 4494, 74-75, 2010

6. Chikako Kaminaka, Takeshi Nishide, Nobuo Kanazawa, Fukumi Furukawa, Takashi Hashimoto: A case of anti-laminin- γ 1 pemphigoid associated with psoriatic erythroderma, *J Dermatol* 37: 272-275, 2010

7. Seiko Toyozawa, Yuki Yamamoto, Chikako Kaminaka, Akiko Kishioka, Nozomi Yonei, Fukumi Furukawa: Successful treatment with trichloroacetic acid for inflammatory linear verrucous epidermal nevus: a case report, *J Dermatol* 37: 384-386, 2010

8. Fukumi Furukawa, Chikako Kaminaka, Takaharu Ikeda, Nobuo Kanazawa, Yuki Yamamoto, Chiaki Ohta, Takeshi Nishide, Kaoru Tsujioka, Maiko Hattori, Koji Uede, Maki Hata: Preliminary Study of Etidronate for Prevention of Corticosteroid-induced Osteoporosis Due to Oral Glucocorticoid Therapy, *Clin Exp Dermatol* 36: 165-168, 2010

9. 上出三起子、上中智香子、山本有紀、古川福実：アトピー性皮膚炎患者の顔面および頸部の皮疹に対する基礎化粧品の使用試験、*日本美容皮膚科学会雑誌* 20:295-302,2010

10. 国本佳代、西山瑞穂、上中智香子、貴志知生、山本有紀、古川福実、高木正：症状の外観を呈した乳輪下膿瘍の1例、*臨床皮膚科* 64 : 225-227, 2010

11. 上中智香子、岡本勝行、金澤伸雄、山本有紀、古川福実：膿疱性乾癬の皮疹部に発生した有棘細胞癌の1例、*皮膚病診療* 32 : 1191-1194, 2010

12. 上中智香子、山本有紀：早期皮膚癌のフェノールを用いたピーリング療法、*日本医事新報*: 4494, 74-75、2010

13. 山本有紀、米井 希、上中智香子、古川福実：面皰治療のコツ2：ケミカルピーリング。Monthly Book *Derma* 170 (増大号) :39-42,2010

[学会発表] (計 29 件)

1. Tomoo Kishi, Yuki Yamamoto, Seiko Toyozawa, Chikako Kaminaka, Nobuo Kanazawa, Fukumi Furukawa: Immunohistochemical analysis of CXCR4, CCR6, CCR7, and SDF-1 expression in angiosarcoma, The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Dec 9-11 2011, Kyoto, Japan

2. Hong-jin Li, Chikako Kaminaka, Fukumi Furukawa, Nobuo Kanazawa : Involvement of calcitonin gene-related peptide on transient receptor potential vanilloid 1-mediated inhibition of contact dermatitis, The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Dec 9-11 2011, Kyoto, Japan

3. Seiko Toyozawa, Yuki Yamamoto, Chikako Kaminaka, Tomoo Kishi, Yasushi Nakamura, Fukumi Furukawa: CXCR4 and CXCR12 expressions in cutaneous malignant melanoma are correlated with prognostic factors, The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Dec 9-11 2011, Kyoto, Japan

4. Hong-jin Li, Chikako Kaminaka, Fukumi Furukawa, Nobuo Kanazawa: Role of the transient receptor potential vanilloid 1 in murine hapten-induced contact dermatitis model, 21st International Symposium of Itch, Oct 29 2011, Osaka, Japan

5. 上出三起子、米井 希、上中智香子、古川福実、山本有紀：ざ瘡患者に対するグリコール酸ピーリングの有用性と安全性、第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2011.10.8-9、沖縄

6. 山本有紀、豊澤聖子、上中智香子、古川福実：CXCR4 は悪性黒色腫の悪性を指標する可能性がある、第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2011.10.8-9、沖縄

7. Hong-jin Li, Nobuo Kanazawa, Ayako Kimura, Chikako Kaminaka, Nozomi Yonei, Yuki Yamamoto, Fukumi Furukawa:

Contribution of transient receptor potential vanilloid 1 signaling on healing of the damaged skin after trichloroacetic acid peeling, The 3rd World Congress of Minimal Invasive Plastic Surgery and Dermatology, Sep 24-25 2011, Shanghai, China

8. 米井 希、上中智香子、木村文子、豊澤聖子、古川福実、山本有紀：日光性黒子 40 例の病理組織学的特徴、第 29 回日本美容皮膚科学会・学術大会、2011.9.10-11、山口

9. 上出三起子、上中智香子、山本有紀、古川福実：和歌山医大皮膚科におけるメディカルメイクアップ外来、第 29 回日本美容皮膚科学会・学術大会、2011.9.10-11、山口

10. 上出三起子、上中智香子、中村靖司、山本有紀、古川福実：皮膚ループスエリテマトーデスにおける肥満細胞。第 41 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会、2011.7.16-17、甲府

11. 上中智香子、豊澤聖子、米井 希、古川福実、山本有紀：フェノールによる上皮性皮膚腫瘍の治療効果とケモカインレセプターに関する免疫組織化学的検討、第 27 回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会、2011.6.3-4、東京

12. Chikako Kaminaka, Nozomi Yonei, Yuki Yamamoto, Fukumi Furukawa: Preliminary trial of phenol peels for superficial basal cell carcinoma, The 22nd World Congress of Dermatology, May 24-29 2011, Seoul, South Korea

13. 上出三起子、上中智香子、中村靖司、山本有紀、古川福実：皮膚ループスエリテマトーデスにおける肥満細胞、第 110 回日本皮膚科学会総会、2011.4.15-17、横浜（震災により中止 誌上发表）

14. Chikako Kaminaka, Seiko Toyozawa, Nozomi Yonei, Yuki Yamamoto, Yasushi Nakamura, and Fukumi Furukawa : Phenol peels for the treatment of actinic keratosis and Bowen's disease: correlation with chemokine receptors expression. 第 2 回 JSID きさらぎ塾、2011.2.24-27、沖縄

15. 上中智香子、山本有紀、古川福実、木村文子：多発性に生じた腹壁外デスマイド腫瘍の 1 例、第 423 回日本皮膚科学会大阪地方会、2011.2.19、大阪

16. Chikako Kaminaka, Seiko Toyozawa, Nozomi Yonei, Yuki Yamamoto, Fukumi Furukawa: Phenol peels for the treatment of actinic keratosis and Bowen disease: correlation with chemokine receptors expression. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2010.12.3-5. Wakayama.

17. Hong-jin Li, Chikako Kaminaka, Fukumi Furukawa, Nobuo Kanazawa: Role of the transient receptor potential vanilloid 1 in a murine contact dermatitis model. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2010.12.3-5. Wakayama.

18. Seiko Toyozawa, Yuki Yamamoto, Chikako Kaminaka, Yasushi Nakamura, Fukumi Furukawa: CXCR4 expression is associated with thickness of malignant melanoma. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2010.12.3-5. Wakayama.

19. Nozomi Yonei, Chikako Kaminaka, Ayako Kimura, Seiko Toyozawa, Fukumi Furukawa: A novel histopathological classification of solar lentigines in Japanese patients. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2010.12.3-5. Wakayama.

20. 金澤伸雄、李 洪錦、中谷友美、木村文子、米井 希、上中智香子、山本有紀、古川福実：トリクロロ酢酸ピーリングにおける Transient receptor potential protein 1 (TRPV1) の役割。第 62 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2010.10.23.-24.岡山

21. Hong jin Li , Chikako Kaminaka ,Fukumi Furukawa , Nobuo Kanazawa : Role of the transient receptor potential vanilloid 1 in a murine chronic contact dermatitis model. The First Eastern Asia Dermatology Congress, 2010.9.30-10.3. Fukuoka

22. Hong jin Li , Chikako Kaminaka ,Fukumi Furukawa , Nobuo Kanazawa : Role of the transient receptor potential vanilloid 1 in a murine chronic contact dermatitis model. The First Eastern Asia Dermatology Congress, 2010.9.30-10.3. Fukuoka

()

研究者番号：

23. 上中智香子、中村智之、山本有紀、古川福実：ラジオ波焼灼療法（Radiofrequency Ablation: RFA）による熱傷の2例。第61回日本皮膚科学会中部支部学術大会、2010.9.11-12. 大阪

24. 米井 希、上中智香子、木村文子、古川福実、山本有紀：ロングパルスヤグレーザー（Gentle YAG）の血管病変に対する使用効果。第28回日本美容皮膚科学会総会・学術大会、2010.8.7-8. 東京

25. 木村文子、上出三起子、米井 希、上中智香子、古川福実、山本有紀：ざ瘡に対するケミカルピーリングの治療効果と心理的影響の変化。第28回日本美容皮膚科学会総会・学術大会、2010.8.7-8. 東京

26. 上中智香子、豊澤聖子、米井 希、古川福実、山本有紀：フェノールピーリングによる上皮性皮膚腫瘍の治療効果と細胞接着分子・ケモカインレセプターに関する免疫組織化学的検討。第28回日本美容皮膚科学会総会・学術大会、2010.8.7-8. 東京

27. 米井 希、上中智香子、木村文子、豊澤聖子、古川福実、山本有紀：当科での日光（性）黒子の病理組織学的検討、第109回日本皮膚科学会総会、2010.4.16-18. 大阪

28. 上出三起子、上中智香子、山本有紀、古川福実：アトピー性皮膚炎患者の顔面および頸部に対する基礎化粧品の安全性および有用性、第109回日本皮膚科学会総会、2010.4.16-18.大阪

29. 石黒真理子、上中智香子、貴志知生、山本有紀、古川福実：神経線維腫症1型に発症した菌状息肉種の1例。第417回日本皮膚科学会大阪地方会、2010.2.13. 大阪

〔図書〕（計 0件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上中 智香子（KAMINAKA CHIKAKO）
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：70433357

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者