

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08340

研究課題名（和文）皮膚炎症性疾患における温度感受性TRPチャネルの役割と治療への応用

研究課題名（英文）Role of temperature-sensitive TRP channels in skin inflammatory diseases and their therapeutic application

研究代表者

茂木 精一郎 (Motegi, Sei-ichiro)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20420185

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、皮膚炎症性疾患である尋常性乾癬のマウスモデルを用いて、温度感受性チャネルであるTRPV4の病態における役割と制御機構について検討した。我々は、尋常性乾癬患者の病変部皮膚でTRPV4の発現が亢進することを明らかにした。TRPV4遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比較して乾癬様皮疹が改善することを見出した。また、病変部における炎症細胞浸潤や炎症性サイトカイン、ATP産生などが低下することも明らかにし、乾癬様皮疹の病態におけるTRPV4の役割を解明した。TRPV4アンタゴニストの投与によって皮疹が改善することも見出し、今後の治療法の開発が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚（表皮細胞、神経、線維芽細胞）に発現するTRPV4が皮膚バリア機能だけではなく、痒みといった皮膚感覚の制御と免疫細胞の制御を介して、皮膚炎症性疾患である尋常性乾癬の病態に寄与することを明らかにした。表皮細胞や免疫細胞、神経におけるTRPV4を介した乾癬の病態制御という独自性の高い切り口から、発生機序や病態を解明した。また、TRPV4アンタゴニストの投与によって皮疹が改善することを見出し、この成果が新たな治療法の開発に貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Using a mouse model of psoriasis vulgaris, a cutaneous inflammatory disease, we investigated the role of TRPV4, a temperature-sensitive channel, in the pathogenesis and its regulatory mechanism. We found that TRPV4 expression is upregulated in the lesional skin of psoriasis vulgaris patients, and that TRPV4 gene-deficient mice show improved psoriasis-like skin eruption compared to wild-type mice. The study also revealed that TRPV4 plays a role in the pathogenesis of psoriasis-like skin lesions, and that TRPV4 antagonist treatment improves the skin lesions, suggesting the possibility of future therapeutic development.

研究分野：皮膚疾患 免疫疾患

キーワード：尋常性乾癬 TRPV4 温度感受性TRPチャネル

## 1. 研究開始当初の背景

温度感受性 Transient Receptor Potential (TRP)チャネルは、温度だけではなく化学的・物理的刺  
激を感受するセンサーとして様々な生体機能に関わっている。近年、TRP チャネルと様々な疾患  
との関連が明らかとなっており、新規創薬ターゲットとして注目されている。TRP チャネルの一  
つである TRPV ファミリーには TRPV1~6 があり、神経終末に発現する TRPV1 は温度や脂質、  
真菌など様々な刺激に反応してサブスタンス P やカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP)  
を産生し皮膚の痒みを生じさせることでアトピー性皮膚炎や痒疹、乾癬などの痒みを伴う皮膚  
疾患の病態に關与する可能性が報告されている (J Invest Dermatol 2011; 131: 1576)。また、末梢  
神経における TRPV1 が樹状細胞および IL-23 - IL17 パスウェイを制御することで乾癬の病態  
を制御することが報告されている (J Dermatol Sci 2018; 92: 264)。また皮膚表皮細胞における  
TRPV3 の活性化は TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの産生に関することも報告されている (J  
Invest Dermatol 2018; 138: 365)。これらのことから TRPV ファミリーは乾癬やアトピー性皮膚炎  
における表皮細胞、神経細胞、免疫細胞、サイトカイン産生などからなる病態制御に重要な役割  
を担っている可能性が示唆される。

TRPV4 は体温に近い温度域 (27~35 の温度) で活性化するだけでなく、浸透圧の変化や  
力学的な変化でも活性化し、環境センサーとしての役割が注目されている。皮膚においては、表  
皮細胞や線維芽細胞、感覚神経終末に発現し、様々な機能を制御することが報告されている。例  
えば、TRPV4 の皮膚温下での活性化がアドヘレンスジャンクション、タイトジャンクションの  
形成・成熟を促進し、皮膚バリア機能の亢進にかかわることが報告 (J Biol Chem 2010; 285: 18749-  
58, Pflugers Arch 2012; 463: 715-25, Skin Pharmacol Physiol 2013; 26: 15-21)されており、皮膚バリア  
機能障害を呈するアトピー性皮膚炎において TRPV4 が機能制御を担っている可能性が示唆さ  
れる。また、TRPV4 の活性化が痒みを誘導することも報告されている (J Allergy Clin Immunol  
2018; 141: 608-19, Pflugers Arch 2017; 469: 1313-23)。さらに、TRPV4 はT細胞に発現し、T細胞  
機能の制御に関わることが報告されており (FEBS J 2015; 282: 2661-81)、TRPV4 が免疫機能の  
制御にも関わることが推測される。最近、表皮におけるエンドセリンの発現増加がアトピー性皮  
膚炎の病態に関わることが報告されたが (Allergy 2020; doi: 10.1111/all.14451.)、興味深いことに、  
TRPV4 が表皮のエンドセリンの発現増加を調節することも報告されており (PNAS 2013; 3225-34)、  
このことから アトピー性皮膚炎の病態に TRPV4 が關与することが示唆される。

その他には、TRPV4 は毛包部の表皮細胞に発現し、毛の成長を制御すること (J Invest Dermatol  
2019; 139: 1385)、酒さの病変部の表皮細胞と線維芽細胞で発現が増加していること (J Invest  
Dermatol 2012; 132: 1253)、強皮症患者の皮膚硬化部位の線維芽細胞で発現が増加し、強皮症の皮  
膚線維化に関わること (J Invest Dermatol 2017; 137: 962, Am J Physiol Cell Physiol 2017; 312: 562)  
などが報告されている。

これらの報告、知見の積み重ねによって、皮膚(表皮細胞、神経、線維芽細胞)に発現する  
TRPV4 が皮膚バリア機能だけではなく、痒みといった皮膚感覚の制御と免疫細胞の制御を介し  
て、皮膚炎症性疾患である尋常性乾癬やアトピー性皮膚炎の病態に寄与するのではないかと仮  
説を立てた。

そこで、我々は、倫理委員会の承認を経て、乾癬患者の病変部皮膚と健常部の TRPV4 発現量  
を免疫染色によって比較した。その結果、病変部の肥厚した表皮では健常部と比較して TRPV4  
の発現が亢進していた。さらに、アトピー性皮膚炎患者の病変部の表皮でも健常部と比較して

**TRPV4 の発現が亢進していた。**これらの結果より、乾癬とアトピー性皮膚炎の病態において TRPV4 が何らかの役割、制御を担っている可能性が示唆される。

## 2. 研究の目的

上記のように、TRPV4 は感覚（痒みなど）だけではなく、免疫細胞を制御することも報告されている。皮膚においては、バリア機能の制御が報告されているが、**具体的に皮膚炎症性疾患モデルを用いて、TRPV4 の役割や病態の制御機構について詳細に解明した報告はない。**

そこで、本研究では、TRPV4 遺伝子欠損マウスと野生型マウス用いて、イミキモド外用による乾癬様皮疹と Calcipotriol 外用によるアトピー性皮膚炎様皮疹を誘発し、病理学的、分子生物学的解析を用いて比較検討することによって、**尋常性乾癬とアトピー性皮膚炎の病態における TRPV4 の役割と制御機構について解明し、治療への応用を目指すことを目的とした。**

次の4点を主な目的とした。

1. TRPV4遺伝子欠損マウスと野生型マウス用いて、イミキモド外用による乾癬様皮疹と、Calcipotriol外用によるアトピー性皮膚炎様皮疹を誘発し、病変への影響を明らかにする。
2. TRPV4遺伝子欠損による病変部の免疫細胞数や炎症性サイトカインの発現量、角化細胞の変化（フィラグリン発現量など）などを明らかにする。
3. 角化細胞を用いてTRPV4欠損による増殖、分化、サイトカイン発現などへの影響を明らかにする（*in vitro*）
4. TRPV4アンタゴニスト投与による治療効果を明らかにする。

## 3. 研究の方法

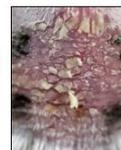
**TRPV4 遺伝子欠損マウスと野生型マウス用いて、イミキモド外用乾癬様皮疹と、Calcipotriol 外用によるアトピー性皮膚炎様皮疹を誘発し、病変への影響、制御機構を明らかにする（*in vivo* と *in vitro*）。**

我々はイミキモド外用乾癬モデルマウスの実験系を確立している。方法としては、5%イミキモドクリーム(62.5mg)を剃毛したマウス背部の皮膚に5日間連続外用し、皮膚の紅斑・皮膚の厚さ、鱗屑の3項目のスコアで乾癬の重症度を評価する。また、これまでに、Calcipotriol 外用によるアトピー性皮膚炎様皮疹マウスモデルを用いた検討が数多く報告されている。この方法は Journal of Investigative Dermatology 誌の「アトピー性皮膚炎モデルマウスの作成方法」で紹介されており、確立された動物モデルと考える (J Invest Dermatol 2019;139:984)。これらのモデルを用いて、TRPV4 による乾癬とアトピー性皮膚炎の病態制御機構を解明するため、野生型マウスと TRPV4 遺伝子欠損マウスの皮疹部から採取した皮膚組織を用いて 炎症細胞浸潤（好中球、マクロファージ、リンパ球: Th1, Th2, Th17）、炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ , IL-17A/F/c, IL-23, IL-22, IL-4, IL-13 など）の発現、サブスタンス P、CGRP などの神経伝達物質の発現、痒みに関するサイトカインである IL-31 の産生能、PGP9.5 染色による神経分布、バリア機能に関わる分子（フィラグリン、ロリクリンなど）の発現について比較する（右上図）。さらに野生型および TRPV4 遺伝子欠損マウスから初代表皮培養細胞を作

本研究で何をどのように、どこまで明らかにしようとするのか

**TRPV4による乾癬とアトピー性皮膚炎の病態制御機構を解明する。**

イミキモド外用  
乾癬モデル  
マウス



Calcipotriol外用  
によるアトピー性  
皮膚炎モデル  
マウス



皮疹部から採取した皮膚組織を用いて

- ① 炎症細胞浸潤（好中球、マクロファージ、リンパ球: Th1, Th2, Th17）
- ② 炎症性サイトカインの発現（TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-22, IL-17A,F,C, IL-23など）
- ③ サブスタンスP、CGRPなどの神経伝達物質の発現
- ④ 痒みに関するサイトカインであるIL-31の産生能
- ⑤ PGP9.5染色による神経分布
- ⑥ 染色によるバリア機能関する分子発現（フィラグリン、ロリクリン等）

• TRPV4 WT/KOマウスから初代表皮培養細胞を作成し、増殖能、バリア機能に関わる分子（フィラグリン、ロリクリンなど）、炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-22, IL-17cなど）について比較、検討を行う。

成し、増殖能、バリア機能に関わる分子（フィラグリン、ロリクリンなど）、表皮細胞が発現する炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-22、IL-17c など）について比較する。

#### TRPV4 アンタゴニストを投与して治療効果を明らかにする (in vivo)。

野生型マウスを用いて乾癬様皮疹マウスとアトピー性皮膚炎様皮疹マウスにおける選択的 TRPV4 アンタゴニスト（HC-067047）の影響を比較、検討する。TRPV4 アンタゴニストは全身投与および外用投与を行う。コントロール群、TRPV4 アンタゴニスト投与群における皮疹の重症度及び組織学的・免疫学的、分子生物学的検討を行うことで TRPV4 阻害剤による乾癬とアトピー性皮膚炎への新規治療薬の可能性について検討を行う。

#### 4．研究成果

乾癬の患者さんの皮膚と正常の皮膚を比較したところ、乾癬の表皮細胞において TRPV4 が高発現していることを明らかにした。さらに、イミキモド外用によるマウスの乾癬様皮疹部では健常部より表皮細胞の TRPV4 発現が乾癬患者と同様に増加することを確認した。群馬大学分子細胞生物学教室より TRPV4 遺伝子欠損マウスを譲渡され保有しており、野生型マウスと TRPV4 遺伝子欠損マウスにおける乾癬発症の違いを比較した。その結果、**TRPV4 遺伝子欠損マウスでは、乾癬様皮疹の症状が抑制されることを明らかにした。**

乾癬の皮膚炎部では炎症を生じる細胞（樹状細胞、Th17 細胞）が増え、炎症を引き起こすサイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23）を産生する。また乾癬の皮疹部では神経線維が伸長し、神経伝達物質を放出し炎症細胞を活性化する。また、細胞外 ATP は傷害関連分子パターン（DAMPs）と呼ばれ、炎症を引き起こす因子として知られている。機序を解明するためにマウスの乾癬様皮膚炎部における炎症細胞浸潤、炎症性サイトカイン、神経線維および神経ペプチド、ATP の量について検討した。

その結果、TRPV4 の遺伝子を欠損したマウスでは正常のマウスと比較して、炎症細胞（好中球、マクロファージ）や炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-17、IL-23 など）の発現、ATP の量および神経線維の数や神経ペプチド（CGRP、サブスタンス P）の発現が TRPV4 の遺伝子を欠損したマウスで低下していた。また、表皮細胞を用いた実験では TRPV4 が温度や乾燥などの刺激によって細胞外への ATP 放出を促進し、細胞増殖を促進することも見出した。最後に、乾癬様皮膚炎マウスに対する TRPV4 阻害薬（アンタゴニスト）の局所注射による治療効果について検討した。その結果、TRPV4 阻害薬によって、乾癬様皮膚炎の重症度が改善した。

本研究結果から、TRPV4 によって乾癬の病態が制御されることが示唆された。表皮細胞に発現する TRPV4 はイミキモド外用で発現が上昇し、擦過刺激や温度刺激などによって活性化 ATP 産生を制御することが考えられる。また、表皮細胞は TNF- $\alpha$  や IL-1 $\beta$  などのサイトカインを産生し樹状細胞の活性化を介し、IL-23/Th17 経路を介して乾癬の皮疹を誘導することも示唆される。乾癬の皮疹では伸長した神経線維が神経ペプチドを産生・放出することでも IL-23/Th17 経路を活性化し乾癬の皮疹や搔痒を生じる。我々は TRPV4 阻害薬を局所注射したところ、イミキモド外用誘発乾癬様皮膚炎の重症度の改善がみられた。本研究の成果によって、TRPV4 を治療ターゲットとした新たな乾癬の治療アプローチの可能性が見出された。TRPV4 阻害薬の外用剤などの新たな薬剤の開発につながる可能性が示唆された。

これらの成果は、Journal of Investigative Dermatology 誌に掲載された。

Amalia SN, Baral H, Fujiwara C, Uchiyama A, Inoue Y, Yamazaki S, Ishikawa M, Kosaka K, Sekiguchi A, Yokoyama Y, Ogino S, Torii R, Hosoi M, Shibasaki K, Motegi SI.

TRPV4 Regulates the Development of Psoriasis by Controlling Adenosine Triphosphate Expression in Keratinocytes and the Neuroimmune System.

J Invest Dermatol. 2023; 143(12): 2356-2365.e5.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Amalia SN, Baral H, Fujiwara C, Uchiyama A, Inoue Y, Yamazaki S, Ishikawa M, Kosaka K, Sekiguchi A, Yokoyama Y, Ogino S, Torii R, Hosoi M, Shibasaki K, Motegi SI.	4. 巻 143(12)
2. 論文標題 TRPV4 Regulates the Development of Psoriasis by Controlling Adenosine Triphosphate Expression in Keratinocytes and the Neuroimmune System.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 2356-2365
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2023.05.009. Epub 2023 May 30.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Syahla N. Amalia, Akihiko Uchiyama, Hritu Baral, Chisako Fujiwara, Yuta Inoue, Yoko Yokoyama, Sachiko Ogino, Ryoko Torii, Mari Hosoi, Sei-ichiro Motegi
2. 発表標題 TRPV4 regulates psoriasis-like dermatitis via enhancement of Th17 pathway by ATP and neuropeptides production in mouse model
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------