

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 10 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790637

研究課題名（和文）表皮細胞が分泌するエンドセリンによるそう痒とそれを標的とする治療戦略

研究課題名（英文）Pruritus caused by endothelin from keratinocytes and new treatment targeting its endothelin

研究代表者

神 可代（JIN KAYO）

弘前大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60422060

研究成果の概要（和文）：エンドセリンは血管内皮細胞が産生する強力な血管収縮ペプチドである。申請者のグループも近年集中しエンドセリンの研究を行い、表皮細胞の産生するエンドセリンがメラノサイトと ETR に結合し、最終的に転写因子である MITF に働き色素増強に導くことを明らかにしている。表皮の変化を伴う皮膚疾患、たとえば、湿疹、アトピー性皮膚炎、痒疹、紅皮症、日光皮膚炎では、抗ヒスタミン剤の効果はほとんどなく、そう痒のコントロールに非常に苦慮する。本研究の目的は、表皮の変化を伴うそう痒性疾患でのそう痒へのエンドセリンの関与を明らかにし、そう痒に対する新しい治療戦略を確立することにある。今回の研究の結果では、エンドセリンがそう痒に関連する結果が得られたが、結果が不十分であり、さらなる研究の継続の重要性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Endothelin is produced by endothelial cells and potent vasoconstrictor. We have recently concentrated on endothelin study and demonstrated that endothelin synthesized by keratinocytes binds to ETR of melanocytes and induce pigmentation by action with MITF. Skin disease with epidermal changes such as eczema, atopic dermatitis, pururigo, erythrodermia, solar dermatitis has no or little response against anti-histamines. The purpose of this study is involvement of endothelin in those itchy skin diseases and establish new treatments to those diseases. The results of this study suggests that endothelin may play some role in itching sensation of the skin, but are not sufficient. Therefore, further study need for strong clarification.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・疼痛学

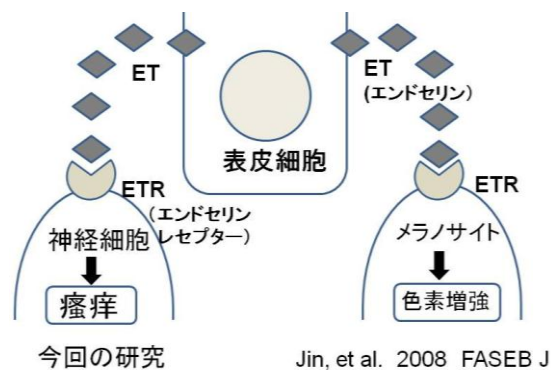
キーワード：そう痒、表皮、エンドセリン、レセプター、シグナル

1. 研究開始当初の背景

エンドセリンは血管内皮細胞が産生する 21 アミノ酸残基からなる強力な血管収縮ペプチドとして発見された。エンドセリンは異なる 3 つの遺伝子によってコードされるペ

プチド異性体エンドセリン-1, 2, 3 からなり、その薬理作用は若干異なる。エンドセリンの作用はエンドセリン受容体 A と B（ETR-A、ETR-B）を介して細胞に伝えられる。エンドセリンは種々の組織で産生され、いろいろな

異なった作用を有していることが次々と明らかとなり、皮膚でも表皮細胞がエンドセリンを産生すること、エンドセリンを皮膚に局注するとそう痒が誘発されることが知られるようになってきた。申請者のグループも近年集中しエンドセリンの研究を行い、表皮細胞の産生するエンドセリンがメラノサイトとETRに結合し、最終的に転写因子であるMITFに働き色素増強に導くこと明らかにしている。(Jin K et al. 2008 FASEB J) (図1)。



そう痒は皮膚に生ずる不快な感覚で搔破行動を引き起こす。表皮の変化を伴う皮膚疾患、たとえば、湿疹、アトピー性皮膚炎、痒疹、紅皮症、紫外線、熱傷などの皮膚炎では臨床的に紅斑、赤色丘疹、搔破痕を特徴とし、抗ヒスタミン剤の効果はほとんどなく、そう痒のコントロールに非常に苦慮する。さて、このような表皮の変化の伴う疾患では、真皮のマスト細胞から出るヒスタミンではなく、なにか、表皮細胞から放出される因子がそう痒に関連していると考えるのが理にかなっている。そこで、皮膚に局注するとそう痒を起こす化学物質であり、表皮細胞で豊富につくられているものとして、申請者はエンドセリンに着目した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、表皮の変化を伴うそう痒性疾患でのそう痒へのエンドセリンの関与

を明らかにし、そう痒に対する新しい治療戦略を確立することにある。そのような目的は達成されれば、臨床皮膚科の分野への大きな波及効果がある。そう痒を伴う皮膚疾患のうち特に治療が難しいのが、表皮の変化を伴うそう痒性皮膚疾患である。そのそう痒発症機構の一端としてエンドセリンが関与することが明らかとなれば、新しい抗そう痒の治療戦略も生まれる可能性がある。さらにそう痒の発症機構の解析もエンドセリンやETRといった新しい側面からのアプローチも盛んになると思われ、本研究の皮膚科領域における臨床的な意義が非常に大きい。

3. 研究の方法

(1) 表皮からのエンドセリンの産生の検討

種々のサイトカイン、紫外線などの刺激による表皮細胞からETの産生分泌を検討する。また、ETのプロモーターの解析も行う。

(2) ラット脊髄後根神経節 (RDG) 細胞でのエンドセリンレセプターの解析

RDG細胞にどのETRがET1-3のどのエンドセリンに反応しているのか、ETによるETR発現の変化、ETR拮抗剤、ETRノックダウンによる反応の変化などを検討する。

(3) RDG細胞でのシグナルトランスダクションの解析

色素細胞ではエンドセリンレセプターからMAPKやPKC系を介して、関連遺伝子に刺激が伝達されているのでRDG細胞で類似する経路の活性化について詳細に検討する。

(4) 炎症性疾患でのETの発現の検討

各種皮膚疾患においてETとETERの発現をRT-PCR、ウエスタンブロット、免疫組織学的に検討する。

4. 研究成果

(1) 表皮からのエンドセリンの産生について

正常表皮細胞を培養して検討した。エンドセリンの mRNA 発現を RT-PCR、細胞内および培養液中のエンドセリンの蛋白量をウエスタンブロットを行ったところ、表皮細胞がエンドセリンを産生、分泌することを再確認した。つぎに、エンドセリンを加えて表皮細胞の紫外線障害を検討したところ、エンドセリンが紫外線障害を軽減することが示された。また、その現象にヘムオキシゲナーゼが関連することを明らかにした。我々はすでにエンドセリン 1-3 のプロモーター領域をクローニングして Luc のベクターに挿入している。そのベクターを表皮細胞に導入して、プロモーター活性を測定したところ、活性が認められた。次に、RDG 細胞でのシグナルトランスダクションの解析を行った。DNA アレイを用いてエンドセリン誘導されるストレス関連遺伝子群について検討し、そう痒に関連するような遺伝子候補を決定する実験をおこなった。RDG 細胞をラットから培養し、ERK、MEK、JNK、MAPK などのリン酸化や各種拮抗剤の影響を上記のリン酸化への影響をみたが、有意な結果がえられなかった。その原因は、ラット RDG 細胞の分離細胞数に問題あったと推定された。

(2) 炎症性疾患でのエンドセリンと ETR の発現の検討

弘前大学皮膚科での固定標本や新たに得られた組織について検討した。そう痒性疾患の組織についてエンドセリンと ETR の発現を組織学的に検討したところ、正常コントロールとそれら疾患に差は認められたが、有意な差ではなく、さらに検体数を増やして実験を行う予定である。しかしながら、表皮の変化を伴うそう痒性疾患でのそう痒へのエンドセリンの関与が示唆された。

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 2 件)

1. Koji Itai, Ayumi Korekawa, Kayo Jin, Takayuki Aizu, Akiko Rokunohe, Chihiro Hagiwara, Katsumi Hanada, Daisuke Sawamura: Effect of 0.3 - Millisecond Multi-Pulsed 1064 - nm Laser Nd:YAG in Patients with Postherpetic Neuralgia. 査読有. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications, 2012;2:11-13. doi:10.4236/jcdsa.2012.21003
2. 赤坂英二郎、中野 創、神 可代、木村一之、六戸大樹、芋川玄爾、澤村大輔：紫外線防御機構におけるメラノサイト、ケチノサイトのエンドセリン-1/幹細胞因子を介した相互作用. 査読有. 弘前医学, 2011 ; 62(2-4) : 138-143.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 赤坂英二郎、会津隆幸、神 可代、中島康爾、金子高英、中野 創、澤村大輔、新川秀一：丹毒との鑑別を要した副鼻腔アスペルギルス症. 日本皮膚科学会東北六県合同地方会第 361 回例会、2013. 2. 23-24、仙台市
- ② 金子高英、是川あゆ美、赤坂英二郎、六戸亜希子、六戸大樹、神 可代、会津隆幸、中野 創、澤村大輔：治療開始時期を考慮して異なる治療法を選択した先天性巨大色素性母斑の 2 例. 第 31 回日本臨床皮膚外科学会、2013. 1. 30-2. 2. 台湾高雄市
- ③ 神 可代、会津隆幸、木村一之、金子高英、六戸大樹、六戸亜希子、中野 創、

澤村大輔、當麻景章、森本武史:Docetaxel
投与中に著明な体液貯留をきたした乳房
外 Paget 癌. 日本皮膚科学会青森地方会
第 359 回例会, 2012. 9. 2. ホテル青森市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

神 可代 (JIN KAYO)
弘前大学・医学部附属病院・医員
研究者番号 : 60422060

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :