



# 岐阜大学機関リポジトリ

## Gifu University Institutional Repository

Title	シックハウス症候群の発症因子ならびに治療標的の探索に関する基礎的研究(内容と審査の要旨(Summary))
Author(s)	臼田, 春樹
Report No.(Doctoral Degree)	博士(薬科学) 連創博甲第11号
Issue Date	2012-03-25
Type	博士論文
Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/42974">http://hdl.handle.net/20.500.12099/42974</a>

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	白 田 春 樹（長野県）		
学位の種類	博 士（薬科学）		
学位授与番号	甲第 11 号		
学位授与日付	平成 24 年 3 月 25 日		
専攻	医療情報学専攻		
学位論文題目	シックハウス症候群の発症因子ならびに治療標的の探索に関する基礎的研究 (Investigation on pathogenesis and therapeutic targets in sick building syndrome)		
学位論文審査委員	(主査) 教授 丹 羽 雅 之 (副査) 教授 北 出 幸 夫 (副査) 教授 稲 垣 直 樹		

#### 論文内容の要旨.

シックハウス症候群 (SHS) は、建物に由来する健康被害の総称と定義されている一連の症候群であり、多臓器にわたって種々の症状が認められる機序不明の疾患である。具体的な症状として、アレルギー様症状、自律神経症状ならびに皮膚症状などが出現することが知られている。一方、病因も多岐にわたり、ハウスダスト、気温や湿度の変化および揮発性有機化合物 (VOC) などが考えられている。中でも、formaldehyde (FA) をはじめとする VOC は SHS の主要な原因の一つであり、その曝露影響が評価されてきた。しかし、VOC との接触による皮膚症状の程度・閾値ならびに機序に関しては不明である。そこで、本研究では SHS の病態解析および治療標的の探索を目的とし、VOC 反復塗布によるマウス接触過敏皮膚反応モデルを作成し、各種 VOC の影響について検討を行った。

はじめに代表的な VOC である toluene、xylene および FA をそれぞれマウス耳介に週に 1 回計 5 回反復塗布し、これら VOC の皮膚に対する起炎性を評価した。その結果、toluene および xylene 塗布群では、50% あるいは 100% 塗布群でのみ耳介腫脹が認められたのに対し、FA 塗布群では 2-10% 塗布群において有意かつ濃度依存的な耳介腫脹が認められた。これら 3 種の VOC による耳介腫脹を比較すると、FA ≫ xylene > toluene であり、この順位はそれぞれの VOC を塗布したマウス耳介組織における表皮の肥厚あるいは炎症性細胞浸潤の程度と相関が認められた。したがって、これら 3 種類の VOC のうち、FA が SHS における皮膚症状の発現に最も重要な VOC であることが示された。

つぎに、顕著かつ特徴的な皮膚反応を示した FA についてさらに詳細な検討を行った。すなわち、FA 反復塗布による皮膚炎症に関与する機能因子の探索を目的とし、5% FA を反復塗布したマウス耳介における IL-4、IFN- $\gamma$ 、BDNF、NGF、GDNF、TRPV1 ならびに NT-3 mRNA 発現の解析を行った。その結果、5 回目の FA 塗布 24 時間後の耳介において、これら 7 種全ての因子について mRNA の発現亢進が認められた。IL-4 および IFN- $\gamma$  はアレルギー性の皮膚炎症に関与する因子であり、NGF をはじめとする neurotrophins ならびに TRPV1 は神経末端からの神経ペプチドの放出を介して炎症を引き起こすことが示唆されている。したがって、FA 反復塗布による皮膚炎症にはアレルギー性炎症ならびに neurotrophins あるいは TRPV1 を介した神経原性炎症に関与する可能性が示された。

ついで、FA 反復塗布による皮膚炎症における TRPV1 の機能的意義を明らかにすることを目的とし、以下の検討を行った。すなわち、各 FA 塗布の 30 分前に TRPV1 の antagonist である capsazepine を前処置し、生じる耳介腫脹を観察した。その結果、capsazepine 処置群では対照群に比し、耳介腫脹反

応の抑制が認められた。また、TRPV1 KO マウスを用いて FA 反復塗布による皮膚反応を観察した。その結果、KO マウスでは WT マウスに比し、耳介腫脹反応の有意な減弱が認められた。さらに、5 回目の FA 塗布 24 時間後の耳介における各種機能因子 mRNA の発現を両マウス間で比較したところ、KO マウスでは WT マウスに比し、BDNF、NGF、GDNF ならびに NT-3 mRNA 発現の低下が認められた。したがって、FA 反復塗布による皮膚炎には TRPV1 が関与し、TRPV1 が neurotrophins の発現を up regulate することにより皮膚炎が増悪する可能性が示された。ついで、FA 反復塗布により mRNA の発現亢進が認められた TRPV1 の機能的意義について検討を行った。すなわち、5 回目の acetone (FA の vehicle) または FA 塗布の 6 日後 (耳介腫脹反応がほぼ収束するタイミング)、naïve マウスに耳介腫脹を誘発する閾値濃度の capsaicin (TRPV1 agonist: 10 µg) を耳介に単回塗布し、両群間で耳介腫脹を観察した。その結果、FA 反復塗布群でのみ capsaicin による耳介腫脹反応が認められた。したがって、FA 反復塗布により種々の TRPV1 リガンドに対する過敏性が獲得される可能性が唆された。

以上の成績から、FA は VOC の中でも皮膚に対する強い起炎性を有し、SHS における皮膚症状の発現に重要な VOC であることが判明した。また、FA による皮膚反応の機序として IL-4 や IFN-γ を介したアレルギー性炎症ならびに neurotrophins あるいは TRPV1 を介した神経原性炎症が関与している可能性が示された。特に TRPV1 については、FA 反復塗布による発現亢進、感受性の増大あるいは TRPV1 と neurotrophins とのクロストークを介して皮膚炎症の増悪に関与する可能性が推察される。

#### 論文審査結果の要旨

本論文はシックハウス症候群の発症に関わる因子および治療標的について、マウスの皮膚炎モデルを作製して検討した成績をまとめたものである。シックハウス症候群の発症に関わる主要な因子として揮発性有機化合物 (VOC) が挙げられている。そこで、代表的な VOC である formaldehyde (FA)、toluene および xylene をマウス耳介に反復塗布して皮膚炎を誘発して特徴を解析し、FA が最も強い耳介腫脹を誘発すること、FA 塗布によって IL-4、IFN-γ、BDNF、NGF、GDNF、TRPV1 および NT-3 の mRNA 発現が上昇することを示し、FA による皮膚炎にはアレルギー性炎症とともに神経原性炎症が関与する可能性を明らかにした。ついで、FA によって誘発される皮膚炎に及ぼす TRPV1 拮抗薬および TRPV1 遺伝子ノックアウトの影響を検討し、いずれによっても耳介腫脹が減弱すること、また、遺伝子ノックアウトマウスでは BDNF、NGF、GDNF および NT-3 の mRNA 発現が低下することを明らかにした。さらに、FA を反復塗布したマウスでは、閾値濃度の capsaicin によっても耳介腫脹が誘発されることから、TRPV1 リガンドに対する過敏性が獲得されている可能性を明らかにした。

以上の成績は、シックハウス症候群の原因としての FA の重要性を再確認するとともに、アレルギー性炎症とともに神経原性炎症が重要な役割を果たすこと、特に TRPV1 がニューロトロフィンとのクロストークを介して症状の増悪に関わる可能性があることを明らかにしており、シックハウス症候群の理解と治療標的の検索に寄与するものであり、博士論文として価値あるものと判断した。

#### 最終試験結果の要旨

臼田氏の学位論文の主要な部分は審査付き学術雑誌に公表済みの 2 編の論文にもとづくものであり、本論文が学位論文として完成された内容を有することを確認した。

また、公聴会において、学位論文に関する事項、すなわち、シックハウス症候群の発症に関わる因子、診断、治療等の現状、皮膚炎モデルによって得られた知見および臨床への応用などについて試問を行った。申請者から十分な内容の回答が得られたため、最終試験に合格したものと判定した。

#### 論文リスト

1. Saito A, Tanaka H, Usuda H, Shibata T, Higashi S, Yamashita H, Inagaki N, Nagai H: Characterization of skin inflammation induced by repeated exposure of toluene, xylene, and formaldehyde in mice. *Environ Toxicol* 26: 224-232, 2011. [IF: 2.164]
2. Usuda H, Endo T, Shimouchi A, Saito A, Tominaga M, Yamashita H, Nagai H, Inagaki N, Tanaka H. Transient receptor potential vanilloid 1 - a polymodal nociceptive receptor - plays a crucial role in formaldehyde-induced skin inflammation in mice. *J Pharmacol Sci* 118: 266-274, 2012. [IF:2.419]