

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08765

研究課題名（和文）尋常性白斑病態における活性型ビタミンDの機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of vitamin D effect on vitiligo pathology

研究代表者

山崎 研志（Yamasaki, Kenshi）

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：40294798

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、尋常性白斑患者を対象としてコレカルシフェロールの補充が尋常性白斑症状を改善するのかを検証することを計画し、2021年度に施設の倫理承認を得たのちに、被験者のリクルートを開始することができた。白斑状態の評価方法として、全身臨床症状評価（VASI）とともに局所病変の写真撮影画像評価で有効性を検討する方法について、デジタルカメラで撮影した画像を image J 等の画像解析ソフトウェアにて解析する画像解析手法を構築した。これらを用いて経時的な白斑部の面積や色調の変化などを解析して評価する方法を既存の尋常性白斑皮膚画像を用いて検証している。皮膚色・日焼けのGWASで検証し報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

白斑を含む皮膚色調異常は、紫外線防御を含む皮膚バリア機能の低下の一因となる。私の先行研究においてビタミンDの低下が白斑患者に多いことが明らかになっており、本研究でその医学的意義を検証することは患者を含む社会的意義が大きい。また、皮膚色調に関連する遺伝子をゲノムワイド連鎖解析で確認したことで、皮膚色調の制御因子と環境・外的要因との関連をより精緻に検証できる基盤を本研究は提供した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we planned to test whether cholecalciferol supplementation improves vitiligo vulgaris symptoms in patients with vitiligo vulgaris, and were able to begin recruiting subjects in FY2021 after obtaining institutional ethics approval. As an evaluation method for vitiligo status, we developed an image analysis method to examine the efficacy of photographic image evaluation of local lesions as well as whole body clinical symptom evaluation (VASI), using image analysis software such as image J to analyze images taken with a digital camera. Using these methods, we are verifying the method of analyzing and evaluating the area of vitiligo and changes in color tone over time using existing vitiligo vulgaris skin images. The results were validated using GWAS of skin color and sunburn and reported.

研究分野：皮膚科学

キーワード：白斑 ビタミンD ゲノムワイド連鎖解析 自己免疫疾患

1. 研究開始当初の背景

尋常性白斑は皮膚色素脱失を主症状とする疾患である。発症頻度は全世界的に 0.5 - 2% とされており、初発年齢は小児から成人までさまざまである。尋常性白斑は生命予後には関わらない疾患であるがその外観上の特徴から、周囲から不必要な注目を浴びることも多く、地域によっては根拠のない非難や差別のみならず迫害を受けることもあり患者にとっては精神・身体的に大きな負担となっている。

尋常性白斑の発症機序には、1) 遺伝的背景、2) 患者色素細胞のストレス耐性低下や酸化ストレス感受性亢進による色素細胞傷害、3) 自己炎症性反応による色素細胞傷害、4) 自己免疫的・獲得免疫的応答の惹起による色素細胞攻撃、5) 自己免疫的・獲得免疫的応答の維持・継続による色素細胞傷害範囲の拡大、が種々の程度に関与している。

2014年に実施した「尋常性白斑、ロドデノール含有化粧品による白斑、円形脱毛症患者での血清中ビタミンD値濃度測定の臨床試験」で、血中ビタミンD濃度の指標として25(OH)D濃度を測定したところ、尋常性白斑、ロドデノール含有化粧品による白斑、円形脱毛症のいずれの疾患においても80%以上の患者において血中ビタミンD濃度が不十分(30 µg/ml以下)もしくは欠乏状態(20 µg/ml以下)であった。ビタミンDの欠乏が自己免疫を誘導する環境因子である可能性が示唆されており、色素細胞に対する自己免疫疾患である尋常性白斑におけるビタミンDの影響が示唆される。

2. 研究の目的

本研究では、尋常性白斑患者を対象としてコレカルシフェロールの補充が尋常性白斑症状を改善するのかを検証することを計画する。また、皮膚色調のGWAS解析を行うことにより、その遺伝的背景の関連を検索する。また、白斑モデルマウスにコレカルシフェロールを投与し、白斑形成抑制機構や形成された白斑の改善機構を免疫組織学的、分子生物学的に検証する。

3. 研究の方法

ビタミンDの尋常性白斑症状に対する影響

対象者を無作為にビタミンD投与群と非投与群の2群(各30名)に振り分ける。ビタミンD投与群にはコレカルシフェロール1日 5,000 IUを5ヶ月間内服してもらい、非投与群には偽薬(コレカルシフェロールを含有しないカプセル)を投与する。両群とも組み入れ前から行われていた外用療法の継続は、外用治療薬剤の種類と使用頻度を変更しない限りにおいて併用継続を可とする。エンドポイントは開始5ヶ月後と10ヶ月後の脱色素斑の色調のならびに面積の変化(主要エンドポイント)と介入前後の血中ビタミンD濃度変化(副次エンドポイント)とする。

皮膚色調の影響する遺伝的背景の検索

日焼けのしやすさを指標としたGWAS解析を行い、日本人の色調に影響をあたえる一塩基多型を検証する。この検証には東北大学メディカルメガバンクで開発したジャポニカアレイと東北大学メディカルメガバンクの解析システムを用いて、コホート参加者から得られたデータと比較することで、白斑特異的一塩基多型を検証する。

白斑モデルマウスを用いた検証

化学物質誘発白斑モデルマウスでは、a) 白斑誘発過程において色素細胞の壊死が確認され、b) 白斑部分にCD8リンパ球を主体とした炎症細胞浸潤が確認される。また、c) 形成された白斑は数週間にわたりその白斑を維持し、皮膚色快復の遅延もしくは欠失が起こる。これらのa-cの過程は、ヒト尋常性白斑における色素細胞傷害の誘発、自己免疫応答の惹起、自己免疫・獲得免疫機構による色素細胞傷害の遷延かに相当する。これらのそれぞれの時期にコレカルシフェロールを投与し、免疫組織学的、分子生物学的に白斑形成抑制機構や形成された白斑の改善機構を検証する。

4. 研究成果

ビタミンDの尋常性白斑症状に対する影響

昨今のコロナウイルス騒動CONVID-19によって、試薬準備や試験準備が予定より遅れたが、2021年度に施設の倫理承認を得たのちに、被験者のリクルートを開始することができた。現在、被験者リクルートと解析を順次進めている。白斑状態の評価方法として、全身臨床症状評価(VASI)とともに局所病変の写真撮影画像評価で有効性を検討する方法について、デジタルカメラで撮影した画像をimage J等の画像解析ソフトウェアにて解析する画像解析手法を構築した。これらを用いて経時的な白斑部の面積や色調の変化などを解析して評価する方法を既存の尋常性白斑皮膚画像を用いて検証している。

また、白斑患者に関連する臨床研究として、ステロイドパルス療法の効果を後方視的に検証し、報告した (British Journal of Dermatology, 2021)。

皮膚色調の影響する遺伝的背景の検索

皮膚色・日焼けのGWAS解析を行うことにより、その遺伝的背景を検証し、報告した (Journal of Investigative Dermatology, 2019)。

本研究では、1万人のコホート参加者のデータを解析し、7箇所の感受性領域を見いだした。白皮症責任遺伝子OCA2がマンハッタンプロットで最も高い値を示し、解析結果と色素産生機構との直接の関連が示された。一方で、色素産生機構との関連が示されていない遺伝子も複数確認され、これらの機能を把握する事で、皮膚色調から白斑症との関連について知見を得ることが可能かもしれない。現在、5万人規模に対象を拡大して解析を進展させ、更に複数の遺伝子との関連を確認している。これらの遺伝子を色素細胞で欠失もしくは共発現してその機能解析を行っている。

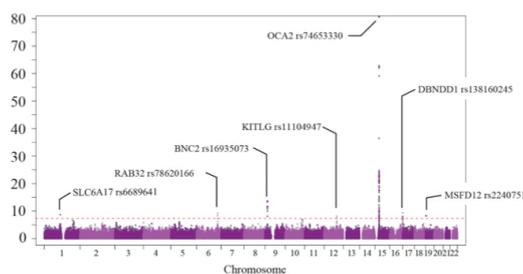


図. 日本人の皮膚色に影響を与える遺伝子のGWAS解析
日本人の皮膚色をスキンタイプJ-I-IIIに分類し、ゲノム関連解析(GWAS)を行い、一塩基多型のマンハッタンプロットを表示した。赤点線は統計学的に有意な閾値($p < 5 \times 10^{-8}$)を示す。関連が示された一塩基多型を含む遺伝子には、色素産生との関連が知られていない遺伝子も検出された。

白斑モデルマウスを用いた検証

白斑モデルマウスにコレカルシフェロールを投与し、白斑形成抑制機構や形成された白斑の改善機構を免疫組織学的、分子生物学的に検証する計画については、自然発症白斑マウスモデルを構築した。解析中である。免疫組織学的、分子生物学的に白斑形成抑制機構や形成された白斑の改善機構を検証するための、具体的な検証対象細胞としてヒトの獲得免疫と自然免疫に関与するCD4/CD8陽性細胞、IFN/IL-17産生細胞、樹状細胞、CD163陽性マクロファージ、CD303陽性形質細胞様樹状細胞、CD141陽性骨髄性樹状細胞などに対応する細胞群を想定し、これらの免疫染色法等の方法を確立した。現在、これらを用いて、コレカルシフェロールの分子生物学的影響を検証中である。

研究全般の進捗について

昨今のコロナウィルス騒動CONVID-19によって、試剤の入手遅延等の影響があり、当初の予定よりも進捗が遅れた。それに併せて被験者リクルートの開始が予定より遅れ、論文発表につながる成果を出すために、時期研究 (2022年度基盤研究科研費採択) へ引き継ぎつつ研究継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koike Saaya, Yamasaki Kenshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Melanogenesis Connection with Innate Immunity and Toll-Like Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9769 ~ 9769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21249769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takeda Kana, Kikuchi Katsuko, Kanazawa Yoshitake, Yamasaki Kenshi, Aiba Setsuya	4. 巻 46
2. 論文標題 Ustekinumab treatment for hidradenitis suppurativa	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1215 ~ 1218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15122	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 -
1. 著者名 Takeda Kana, Kikuchi Katsuko, Kanazawa Yoshitake, Yamasaki Kenshi, Aiba Setsuya	4. 巻 46
2. 論文標題 Ustekinumab treatment for hidradenitis suppurativa	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1215 ~ 1218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15122	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 -
1. 著者名 Takahashi Toshiya, Yamasaki Kenshi, Terui Hitoshi, Omori Ryoko, Tsuchiyama Kenichiro, Fujimura Taku, Aiba Setsuya	4. 巻 46
2. 論文標題 Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens treatment with tumor necrosis factor inhibitors: A case report and review of published cases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 802 ~ 807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14998	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 -

1. 著者名 Shido Kosuke, Kojima Kaname, Yamasaki Kenshi, Hozawa Atsushi, Tamiya Gen, Ogishima Soichi, Minegishi Naoko, Kawai Yosuke, Tanno Kozo, Suzuki Yoichi, Nagasaki Masao, Aiba Setsuya	4. 巻 139
2. 論文標題 Susceptibility Loci for Tanning Ability in the Japanese Population Identified by a Genome-Wide Association Study from the Tohoku Medical Megabank Project Cohort Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1605 ~ 1608.e13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2019.01.015	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 -

1. 著者名 Kumtorrnrut Chanat, Yamauchi Takeshi, Koike Saaya, Aiba Setsuya, Yamasaki Kenshi	4. 巻 93
2. 論文標題 Androgens modulate keratinocyte differentiation indirectly through enhancing growth factor production from dermal fibroblasts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 150 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.01.007	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 該当する

1. 著者名 Koike Saaya, Yamasaki Kenshi, Yamauchi Takeshi, Shimada-Omori Ryoko, Tsuchiyama Kenichiro, Aiba Setsuya	4. 巻 94
2. 論文標題 Toll-like receptor 2 utilizes RAB11A for melanosome transfer from melanocytes to keratinocytes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 310 ~ 312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.04.005	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 -

1. 著者名 Koike Saaya, Yamasaki Kenshi, Yamauchi Takeshi, Shimada-Omori Ryoko, Tsuchiyama Kenichiro, Aiba Setsuya	4. 巻 94
2. 論文標題 TRIF and MAVS signaling pathways regulate RAB27A induction and melanosome transfer by TLR3 signaling in human epidermal melanocytes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 306 ~ 309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2019.04.004	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 -

1. 著者名 Hatchome Naokazu, Shido Kosuke, Kikuchi Katsuko, Terui Hitoshi, Oba Yabana Ikuko, Mori Takefumi, Yamasaki Kenshi, Aiba Setsuya	4. 巻 82
2. 論文標題 Subcutaneous granulomatous reaction with eosinophil infiltration to a silicone continuous ambulatory peritoneal dialysis Tenckhoff catheter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Contact Dermatitis	6. 最初と最後の頁 114 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cod.13399	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 -

1. 著者名 Chatatikun Moragot, Yamauchi Takeshi, Yamasaki Kenshi, Aiba Setsuya, Chiabchalard Anchalee	4. 巻 9
2. 論文標題 Anti melanogenic effect of Croton roxburghii and Croton sublyratus leaves in -MSH stimulated B16F10 cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Traditional and Complementary Medicine	6. 最初と最後の頁 66 ~ 72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtcme.2017.12.002	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 該当する

1. 著者名 M. Wada-Irimada, K. Tsuchiyama, R. Sasaki, N. Hatchome, A. Watabe, Y. Kimura, et al.	4. 巻 48
2. 論文標題 Efficacy and safety of i.v. methylprednisolone pulse therapy for vitiligo: A retrospective study of 58 therapy experiences for 33 vitiligo patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1090-1093
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15858	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 -

1. 著者名 K. Kojima, K. Shido, G. Tamiya, K. Yamasaki, K. Kinoshita and S. Aiba	4. 巻 11
2. 論文標題 Facial UV photo imaging for skin pigmentation assessment using conditional generative adversarial networks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 1213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79995-4	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0件

〔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
---------	---------