

機関番号：13901

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591319

研究課題名 (和文) 上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬による薬疹の病態解明

研究課題名 (英文) Elucidation of mechanism of drug eruption due to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors

研究代表者

杉浦 一充 (SUGIURA KAZUMITSU)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70335032

研究成果の概要 (和文)：上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ (EGFR-TK) は増殖シグナル伝達因子であり、非小細胞性肺癌などの多数の癌の病因に深く関与している。ゲフィチニブは EGFR-TK 阻害薬で、非小細胞性肺癌の治療薬である。ところが、ゲフィチニブはしばしば薬疹を含めた副作用を来す。この薬疹の分子機構は未解明のままであるが、表皮あるいは付属器の細胞の (EGFR-TK) シグナルの阻害によって引き起こされると考えられている。本研究では、ゲフィチニブによる薬疹では IL-1R2 が低下するため、IL-1 を介したシグナルが増強し、CCL2 と CCL5 が上昇していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK) is a transducer of mitogenic signals, and is involved in the pathogenesis and progression of a number of cancers, including non-small cell lung cancer (NSCLC). Gefitinib is an EGFR-TK inhibitor that is clinically used to treat NSCLC; however, this drug frequently causes adverse effects, including skin eruptions. The mechanism underlying these skin reactions is elusive, although it is assumed that they are caused by the inhibition of EGFR-TK signaling in epidermal and adnexal cells. In this study, we demonstrate that IL-1-mediated signaling is activated to induce the high expression of CCL2 and CCL5 via reduction of IL-1R2 in the skin lesions caused by gefitinib.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：皮膚科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬、薬疹、CCL2、CCL5、IL-1、IL-1R2、発症メカニズム

1. 研究開始当初の背景 非小細胞性肺癌等の上皮系腫瘍の治療薬である、表皮増殖因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬 (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor:EGFR-TKI) は 60～98%の確率で瘡様丘疹をはじめとしたさまざまな薬疹を引き起こすが、その発症機序は未解明のまま

であった。この薬疹は EGFR-TKI に対するアレルギーが関与するのではなく、表皮基底層と外毛根鞘のケラチノサイト (KC) に EGFR が多く発現することから、EGFR-TKI の KC に対する直接作用が関与していると予測されていた。しかし、EGFR シグナルを阻害するとどのようなシグナル伝達が KC にもたらされるかとい

った分子レベルの研究報告は当初全くなかった。

2. 研究の目的 EGFR-TKI による薬疹が引き起こされる、分子生物学的機序として、EGFR-TKI により KC の IL-1R2 の発現が低下することにより、IL-1 シグナルが亢進する。その結果、CCL2 と CCL5 の発現が上昇し、この2つのケモカインの作用により好中球性炎症細胞浸潤が惹起されるという仮説を立てた。この仮説の実証を目的とした。

3. 研究の方法

免疫組織化学 健常人 2 人と EGFR-TKI であるゲフェチニブによる薬疹を引き起こした患者 3 人の組織を使用した。

培養実験 KC 細胞株、HaCaT、HSC-1 を使用した。

4. 研究成果

結果

ゲフェチニブによる薬疹の免疫組織化学：CCL2 と CCL5 の発現が上昇していた。

PD153035 と IL-1 による KC からの CCL2 と CCL5 の産生への影響：

PD153035 (ゲフェチニブ前駆体) と IL-1 はともに CCL2 と CCL5 の産生を増加させた。

PD153035 による KC からの IL1R2 の産生への影響：

PD153035 は KC からの IL1R2 の産生を低下させた。

IL1R2 の産生抑制環境下での、IL-1 による KC からの CCL2 と CCL5 の産生：

RNA 干渉法により IL1R2 の産生を低下すると、IL-1 による CCL2 と CCL5 の産生は増加した。

考察

以上の結果より、EGFR-TKI により KC の IL-1R2 の発現が低下することにより、IL-1 シグナルが亢進する。その結果、CCL2 と CCL5 の発現が上昇するという仮説を証明した。

CCL2 と CCL5 の産生上昇が、好中球細胞性炎症が惹起されるかいなかの研究を果たすことは出来なかったが、はじめて、EGFR-TKI による薬疹がどのような分子生物学的機序で発症しているかということについての一端を明らかにすることに成功した。

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 22 件)

- 1 Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Kaminuma O, Hashimoto N, Shimoyama Y,

Saito H, Tomita Y.: Overexpression of LEDGF/DFS70 induces IL-6 via p38

activation in HaCaT cells which is similar to that seen in the psoriatic condition *J Invest Dermatol*

130:2760-2767, 2010 (査読有)

- 2 Yamaki M, Sugiura K, Muro Y, Shimoyama Y, Tomita Y.: Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors induce CCL2 and CCL5 via reduction in IL-1R2 in keratinocytes. *Exp Dermatol* 2010 19(8):730-5 (査読有)
- 3 Hoshino K, Muro Y, Sugiura K, Tomita Y, Nakashima R, Mimori T.: Anti-MDA5 and anti-TIF1 γ antibodies have clinical significance for patients with dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford)* 2010 Sep;49(9):1726-33. (査読有)
- 4 渡邊奏子, 杉浦一充, 富田靖: エトレチナートが有効であった小児膿疱性乾癬: 皮膚病診療 32 巻 11 号 1195-1198(2010) (査読無)
- 5 杉浦一充, 満間照之, 横田雅史, 清水真, 鈴木信吾, 新田悠紀子, 稲垣克彦, 臼田俊和, 工藤清孝, 富田靖: 掻痒性皮膚疾患に対する第 2 世代抗ヒスタミン薬の有効性・安全性 クロスオーバー法を用いた比較検討: Progress in Medicine 30 巻 7 号 1997-2001(2010) (査読無)
- 6 松本朋子, 杉浦一充, 富田靖: インフリキシマブが著効した小児膿疱性乾癬: 皮膚病診療 32 巻 2 号 171-174(2010) (査読無)
- 7 Sugiura K, Muro Y, Futamura K, Matsumoto K, Hashimoto N, Nishizawa Y, Nagasaka T, Saito H, Tomita Y, Usukura J.: The Unfolded Protein Response Is

- Activated in Differentiating Epidermal Keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2009, 129: 2126-2135 (査読有)
- 8 Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y: An evaluation of the efficacy of the toe brachial index - measuring vascular involvement in systemic sclerosis and other connective tissue diseases. *Clin Exp Rheumatol*. 2009, 27: 26-31 (査読有)
- 9 Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y: Evaluation of anti-ribosomal P protein immunoassays in Japanese patients with connective tissue diseases in comparison to indirect immunofluorescence assays. *Scand J Rheumatol*. 2009, 38: 460-463 (査読有)
- 10 Muro Y, Sugiura K, Nitta Y, Mitsuma T, Hoshino K, Usuda T, Hayashi K, Murase Y, Shimizu M, Matsuo H: Scoring of reflux symptoms associated with scleroderma and the usefulness of rabeprazole. *Clin Exp Rheumatol*. 2009, 27: 15-21 (査読有)
- 11 Iwayama-Hibino M, Sugiura K, Muro Y, Tomita Y: Successful topical hemotherapy with a new occlusive dressing for an intractable ulcer on the toe. *J Dermatol*. 2009; 36:245-8. (査読有)
- 12 Saito A, Muro Y, Sugiura K, Ikeno M, Yoda K, Tomita Y: CENP-0, a protein localized at the centromere throughout the cell cycle, is a novel target antigen in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2009;36:781-6. (査読有)
- 13 新田悠紀子, 杉浦一充: Sweet 病 関節炎を伴った症例 *Visual Dermatology* 9 巻1号 50-52(2009) (査読無)
- 14 柴田章貴, 杉浦一充, 奥田容子, 室慶直, 富田靖, 八島章仁: SLE の経過中に Stevens Johnson 症候群進展型中毒性表皮壊死症を呈した1例: 臨床皮膚科 63 巻4号 282-285(2009) (査読有)
- 15 Tanaka N., Muro Y., Sugiura K., and Tomita Y.: Anti-SS-A/Ro antibody determination by indirect immunofluorescence and comparison of different methods of antinuclear antibody screening: Evaluation of the utility of HEp-2 cells transfected with the 60 kDa SS-A/Ro as a substrate. *Modern Rheum* 2008;18(6):585-92. (査読有)
- 16 Morita Y., Muro Y., Sugiura K., Tomita Y.: Anti-cyclic citrullinated peptide antibody in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2008 (査読有) Jul-Aug;26(4):542-7.
- 17 Hoshino K., Muro Y., Sugiura K., Tomita Y.: Comparison of ELISA with CENP-A and CENP-B for the detection of anti-centromere. *Clin Exp Rheumatol* 2008 May-Jun;26(3):505 (査読有)
- 18 Sugiura K, Hirai S, Suzuki T, Usuda T, Kondo T, Azumi T, Masaki S, Yokoi T, Nitta Y, Kamiya S, Ando K, Mori T, Tomita Y: Evaluation of cetirizine hydrochloride-based therapeutic strategy for chronic urticaria *Nagoya J Med Sci*. 2008 Aug;70(3-4):97-106 (査読有)
- 19 Muro Y., Sugiura K., Morita Y., Tomita Y.: High concomitance of

- disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF antibody-positive -patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus* 17: 171-6, 2008 (査読有)
- 20 梶田直美, 杉浦一充, 澤田昌樹, 横田憲二, 富田靖: ミュンヒハウゼン症候群による自傷行為で発症した壊死性筋膜炎の1例: 臨床皮膚科 62 巻 13 号 991-994(2008) (査読有)
- 21 山崎有子, 杉浦一充, 富田靖: Churg-Shtrauss 症候群: 皮膚病診療 30 巻 11 号 1229-1232(2008) (査読無)
- 22 梶田直美, 杉浦一充, 中田誠一, 富田靖: 鞍鼻から診断された第3期梅毒の1例: 皮膚科の臨床 50 巻 10 号 1251-1254(2008) (査読有)
- [学会発表] (計 11 件)
1. Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Tomita Y: Overexpression of LEDGF/DFS70 induces IL-6 via p38 activation in HaCaT cells, which resembles psoriasis. 40th annual ESDR meeting September 2010 Helsinki
 2. Sugiura K, Yamaki M, Muro Y, Tomita Y: Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors induce CCL2 and CCL5 via reduction of type II interleukin-1 receptor in keratinocytes. 14th international congress of immunology 2010 August, Kobe
 3. Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Tomita Y: Overexpression of LEDGF/DFS70 induces IL-6 via p38 activation in HaCaT cells which is similar to psoriatic condition. 14th international congress of immunology 2010 August, Kobe
 4. Muro Y, Hoshino K, Sugiura K, Tamakoshi K: Epidemiologic study of anti-melanoma differentiation-associate gene 5 (MDA-5) autoantibodies - a major autoimmune response in amyopathic dermatomyositis. 14th international congress of immunology 2010 August, Kobe
 5. Watanabe K, Muro Y, Sugiura K, Tomita Y: IgE class autoantibody against DFS70/LEDGF in atopic dermatitis. 14th international congress of immunology 2010 August, Kobe
 6. Higashi N, Sugiura K, Muro Y: Anti-DFS (dense fine speckled) 70 antibody in patients with atopic dermatitis. International symposium on atopic dermatitis 2010 July 2010 München
 7. Sugiura K, Muro Y, Futamura K, Matsumoto K, Hashimoto N, Nishizawa Y, Nagasaka T, Saito H, Usukura J, Tomita Y: The unfolded protein response is activated in differentiation of keratinocytes: The 4th Joint Meeting of Japanese Dermatological Association and Australasian College of Dermatologists, 2009. 7.11 Sapporo
 8. Yagami A, Matsumoto K, Futamura K, Matsuda A, Orihara K, Hashimoto N, Kojima R, Morita H, Sugiura K, Muro Y, Tomita Y, Matsunaga K, Saito H: Examination of Gene Expression Profiles in Hair Root Tissue Provides Useful Local Information:, 2009. 5

American Academy of Allergy Asthma &
Immunology

9. Sugiura K, Muro Y, Futamura K,
Matsumoto K, Hashimoto N, Nishizawa Y,
Nagasaka T, Saito H, Usukura J, Tomita
Y, The unfolded protein response is
involved in epidermal keratinocyte
differentiation The International
Investigative Dermatology 2008, Kyoto,
May 14-17, 2008
10. Sugiura K: LEDGF/DFS70, A Major
Autoantigen of Atopic Dermatitis, Is
a Component of Keratohyalin Granules
5th Georg Rajka International
Symposium on Atopic Dermatitis, Kyoto,
May 11-13, 2008

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

（特許申請）

名称：ADM 抗体エピトープペプチドおよびそ
の利用

発明者：石井陽子、松尾克彦、丹羽幹夫、室
慶直、杉浦一充

権利者：石井陽子、松尾克彦、丹羽幹夫、室
慶直、杉浦一充

種類：特許

番号：特願 2009-119306

出願年月日：平成 21 年 5 月 15 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/derma/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉浦一充 (SUGIURA KAZUMITSU)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70335032

(2) 研究分担者

室 慶直 (MURO YOSHINAO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：80270990

(3) 連携研究者 なし