

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17344

研究課題名（和文）乾癬におけるS1Pシグナルを標的とした新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel treatment targeting S1P signaling on psoriasis in mice model

研究代表者

加納 美優（Kano, Miyu）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：60756237

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）：スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）/S1P受容体シグナルは免疫担当細胞の分化・遊走を制御しており、S1P受容体阻害剤は乾癬に対して有効な治療薬と考えられる。新規選択的S1P1受容体阻害剤を乾癬モデルマウスに投与したところ、表皮の厚さは有意に薄くなり、皮膚への炎症細胞浸潤は減少した。また、脾臓における制御性T細胞の増加を認めた。さらには皮膚において炎症性サイトカインであるIL-17、IL-23が薬剤投与により減少していた。以上より乾癬に対する選択的S1P1受容体阻害剤の有効性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾癬は全身に紅色局面を形成し、表皮の細胞増殖亢進と分化不全を特徴とする自己免疫性炎症性皮膚疾患である。また長期にわたって寛解と増悪を繰り返す慢性疾患である。本研究では新規選択的S1P1受容体阻害剤をイミキモド誘発乾癬モデルマウスに投与したところ、皮膚症状の改善を認め、乾癬に対する有効な治療薬となる可能性が示唆された。この結果は、乾癬におけるS1P/S1P受容体シグナルを標的とした新規治療法の開発につながる重要な発見であり、学術的意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Sphingosine-1-phosphate (S1P) / S1P receptor signal regulates activated T-cell accessing inflamed tissues and modulates lymphocyte differentiation and inhibits keratinocyte proliferation, differentiation and migration. In mice model of psoriasis, administration of a novel selective S1P1 receptor inhibitor improved epidermal hyperkeratosis and reduced inflammatory cell infiltration into the skin. Furthermore, an increase in the number of regulatory T cells in the spleen was observed. S1P1 receptor inhibitors attenuate mRNA expression of inflammatory cytokines in the skin, such as IL-17 and IL-23. These results suggest the therapeutic efficacy of selective S1P1 receptor inhibitors in the treatment of psoriasis.

研究分野：皮膚科学

キーワード：乾癬 スフィンゴシン1リン酸 S1P1受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

乾癬は全身に紅色局面を形成し、表皮の細胞増殖亢進と分化不全を特徴とする自己免疫性炎症性皮膚疾患である。長期にわたって寛解と増悪を繰り返す慢性疾患であり、その皮膚症状のため患者やその家族の生活の質に悪影響を与えている。これまでのところ、T細胞の機能異常が原因の1つで、種々のサイトカインやケミカルメディエーターが本疾患の病態を調節している可能性がある。17型ヘルパーT (Th17) 細胞応答の過剰な活性化が病態発症に大きく関与していることが明らかとなり、生物学的製剤の開発とともに高い効果が期待できる治療が可能となってきた。しかし、生物学的製剤はいずれも注射製剤で時に重篤な副作用を合併することがあるため、より利便性に優れ(経口投与可能)、安全かつ強い臨床効果を発揮する新薬の開発が望まれる。スフィンゴ脂質代謝産物であるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)は、血漿中に存在する脂質メディエーターである。S1Pは細胞膜上に存在するS1P受容体のリガンドとして細胞増殖、接着結合形成など様々な細胞応答を引き起こす。S1P受容体はこれまで、S1P1からS1P5まで5つの受容体が同定されており、S1P1が生理的に最も重要である。S1Pシグナル系の主要な標的は血管系と免疫系である。血管系においては胎生期の血管形成、障壁機能の維持、血管障害に対する防御などに関与する。一方、免疫系においてはリンパ球の体内循環・活性化・分化や、マクロファージ系細胞の機能の調節により、免疫機能の生理的調整、炎症応答に関与する。Tリンパ球は胸腺で成熟後、血液へと移出し、血液と二次リンパ組織中を循環する。未感作Tリンパ球は二次リンパ組織へ移行後、抗原を提示されなかった場合はそのまま血液へと戻るが、抗原提示細胞によって提示された抗原を認識した場合はエフェクター細胞へと分化、増殖後、血液へと戻る。胸腺及び二次リンパ組織からの移出には、S1PおよびS1P1が中心的な働きをしている。近年、S1PとS1P受容体が自己免疫疾患の発症に重要であるとの報告がなされている。S1Pは表皮細胞の細胞増殖を阻害し、ケラチノサイトの分化を誘導し、乾癬において抗炎症効果がみられることが示唆されている(J Dermatol Sci. 71:29-36, 2013)。これまでの自己免疫疾患治療薬はその免疫抑制作用から副作用として易感染性などが問題となっていたが、S1P受容体阻害剤は投与を中止すれば、末梢血中のリンパ球はすぐに投与前の状態に戻ることから安全性の高い薬剤である。このようにS1P受容体阻害剤は強い免疫抑制作用を有する一方で、免疫抑制状態を速やかにリセットすることも可能である利点を併せ持ち、自己免疫疾患に対する理想的な治療薬として期待されている。これらよりS1Pシグナル伝達を標的とすることは、乾癬治療における新たな選択肢となる可能性がある。特に選択的S1P1受容体阻害剤は、徐脈などの副作用に繋がるS1P3受容体シグナルは阻害しないため、より副作用の少ない薬剤と考えられる。

### 2. 研究の目的

(1) 乾癬モデルマウスに新規選択的S1P1受容体阻害剤を投与し、症状の改善効果を比較、検討する。

(2) 乾癬におけるS1P/S1P受容体シグナルの役割を解析する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 乾癬モデル

8-12週齢のC57BL/6マウスを使用した。耳介と剃毛した背部皮膚にイミキモド62.5mg/dayをday0からday6まで毎日外用し、イミキモド誘発乾癬モデルマウスを誘導した。

#### (2) 薬剤の投与

選択的S1P1阻害剤であるCenerimodは10mg/kgを経口にて毎日投与した。イミキモドを外用した2時間後にday0からday6まで投与した。Control群はCenerimod薬剤の溶媒を投与した。

#### (3) 皮膚スキンスコア

以下のスコアリングシステムを用いた。皮疹の重症度：スコア0=なし、スコア1=軽度、スコア2=中等度、スコア3=高度、スコア4=きわめて高度。皮膚症状(紅斑、浸潤肥厚、鱗屑)についてそれぞれ毎日評価し、その合計点(0-12点)で重症度を判定した。病理組織においてはH&E

染色にて表皮の厚さを評価した。皮膚への炎症細胞浸潤数は免疫組織学的に評価した。

#### (4) 制御性 T 細胞

脾臓における制御性 T 細胞についてフローサイトメトリーを用いて評価した。

#### (5) サイトカイン発現の評価

リアルタイム PCR 法を用いて、薬剤投与終了後の皮膚におけるサイトカイン発現を評価した。IL-6、IL-10、IL-12、IL-17、IL-23、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$  について測定した。

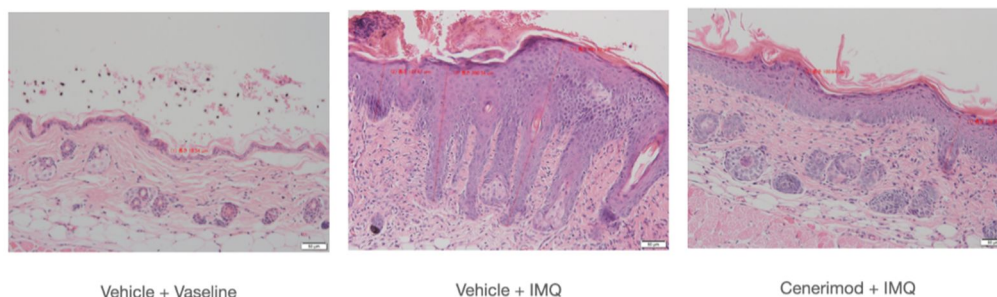
### 4. 研究成果

#### (1) スキンスコア

耳介および背部皮膚のスキンスコアを毎日測定した。耳介および背部皮膚ともに、薬を投与した群は control 群と比較して、有意差をもってスキンスコアが改善していた。

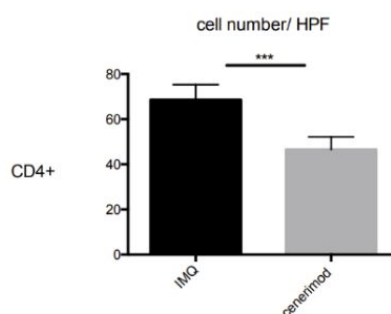
#### (2) 皮膚の病理組織

皮膚の病理組織を HE 染色にて検討したところ、耳介、背部皮膚ともに control 群で厚くなった表皮は cenerimod を投与することで有意差をもって薄くなっていた。



#### (3) 免疫担当細胞の皮膚への浸潤

免疫染色で評価した。CD4 陽性 T 細胞において薬剤投与群は control 群と比較して細胞浸潤数が有意に減少していた。



#### (4) 制御性 T 細胞に対する効果

薬剤投与 7 日目の脾臓における制御性 T 細胞についてフローサイトメトリーにて測定した。CD4CD25 陽性細胞における制御性 T 細胞は、薬剤投与群で control 群と比較して有意差をもって増加していた。

#### (5) サイトカインに対する影響

薬剤投与 7 日目の皮膚を用いてリアルタイム PCR を行い、サイトカインの mRNA を測定した。炎症性サイトカインである IL-17、IL-23 は cenerimod 投与により有意に減少していた。

以上より、選択的 S1P1 受容体阻害剤はリンパ節やバイエル板にリンパ球を蓄積させることによって循環リンパ球を減少させ、炎症部位へのリンパ球の浸潤を抑制することで免疫抑制作用を

発揮していると考えられる。さらに選択的 S1P1 受容体阻害剤は制御性 T 細胞の増数抑制作用を有すると考えた。本研究にて、選択的 S1P1 受容体阻害剤はイミキモド誘発乾癬モデルマウス皮膚への免疫細胞の浸潤を抑制し、サイトカインの発現低下を促すことにより、乾癬の発症を抑制していることが明らかとなり、乾癬への有効な治療薬となる可能性が示唆された。

今後はフローサイトメトリーを用いて、皮膚における CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、B 細胞、マクロファージ、好中球、制御性 T 細胞などの細胞数を比較する予定である。また、S1P 受容体阻害剤である FTY720 投与群と選択的 S1P1 受容体阻害剤投与群との間に炎症改善効果の差があるか及び徐脈などの副作用に差があるかについても検討予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------