

令和 6 年 4 月 12 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08350

研究課題名（和文）かゆみ・炎症・バリアからみたアトピー性皮膚炎におけるMAPKの役割解明と治療応用

研究課題名（英文）Elucidation of the role of MAPK in atopic dermatitis from the perspective of itch, inflammation, and barrier and therapeutic application

研究代表者

中原 剛士（Nakahara, Takeshi）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：40529848

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト・マウスアトピー性皮膚炎において、MAPK経路の中でp-ERKのみ発現増強がみられ、ERK経路がADの病態に関与している可能性が示唆された。そこで、マウスダニ抗原塗布アトピー性皮膚炎モデルにERK阻害剤を外用したところ、様々な皮膚症状スコアが有意に改善し、病理学的検討では、表皮肥厚、炎症細胞浸潤の改善がみられた。さらに、TEWL測定ではバリア機能を改善させることが分かった。しかし、搔破行動の抑制はみられなかった。また、ERK阻害剤はIL-4刺激による表皮細胞のフィラグリン発現減少を回復させ、IL-4刺激による樹状細胞からのTARC産生を低下させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

最近のアトピー性皮膚炎治療は、サイトカインをターゲットにした全身治療が数多く登場し、シグナル伝達経路としてはJAK-STAT経路が内服・外用治療のターゲットとなっている。しかし、まだまだ多くの患者さんの症状を消失させるには至っていない。今回、アトピー性皮膚炎の病態との関連が報告されているERK経路の実際の発現を確認し、*vivo*もしくは*vitro*の実験で、ERK阻害剤の外用がアトピー性皮膚炎の症状を軽減できる可能性が示唆された。このような新規作用機序の外用薬と既存の治療薬をうまく組み合わせることで、アトピー性皮膚炎のさらなる症状改善につながる可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：We examined the expression of p-ERK in mouse and human AD skin. We also investigated the effects of the topical application of an ERK inhibitor on the dermatitis score, transepidermal water loss (TEWL), histological change, and expression of filaggrin, using an AD-like NC/Nga murine model. The effects of an ERK inhibitor on filaggrin expression in normal human epidermal keratinocytes (NHEKs) and on chemokine production from bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) were also evaluated.

p-ERK was highly expressed in mouse and human AD skin. Topical application of an ERK inhibitor alleviated the clinical symptoms, histological changes, TEWL, and decrease in expression of filaggrin in the AD-like NC/Nga murine model. The ERK inhibitor also restored the IL-4 induced reduction in the expression of filaggrin in NHEK, and inhibited chemokine production from BMDC induced by IL-4.

研究分野：皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎 ERK経路

1. 研究開始当初の背景

MAPK は、細胞のさまざまな機能に關与するセリン/スレオニン・キナーゼで、ERK、p38、JNK 経路が存在する。これら複数の MAPK 経路が正しく制御されることで人体の恒常性が維持されるが、その制御異常により様々な疾患をきたしうる。我々は以前、ヒト樹状細胞 (DC) において、様々な刺激による活性化には MAPK 経路が關与し、p38MAPK、JNK 経路が引き続く Th1 反応に關与する可能性、ERK 経路が Th2 反応に關与する可能性を見出した。また、リンパ球の TARC に対する遊走には MAPK 経路がかかわっていることも報告している。これらの結果は、アトピー性皮膚炎 (AD) などの炎症性皮膚疾患における T 細胞免疫応答決定の過程で、各種 MAPK 経路の活性化やそのバランスが重要な役割を果たすことを示している。さらに我々は、表皮で起痒物質エンドセリン-1 (ET-1) がアレルギー炎症誘導に重要な IL-25 と相互に増幅しあうこと、ET-1 は DC を直接活性化することから、ET-1 が AD の炎症にもかかわる可能性を見出し、ET-1 と IL-25 の相互作用、ET-1 による DC の活性化にすべての MAPK 経路がかかわっていることを報告した。さらに、ET-1 受容体拮抗薬外用が AD の炎症・かゆみを改善することも見出し、これらのことから、ET-1 は下流の MAPK 経路を介して AD の炎症・かゆみに關与し、それらの障害が治療効果につながる可能性が考えられた。また、我々は多くの AHR リガンドが皮膚バリア機能の改善をもたらすことを報告してきたが、最近、IL-4 刺激による IL-33 産生に ERK 経路、p38MAPK 経路がかかわること、AHR リガンドは ERK 経路を抑制してバリア機能を改善することを報告した。このことは、バリア機能制御においても MAPK 経路が強く關与することを想起させた。

2. 研究の目的

実際に AD 皮膚での各種 MAPK 発現を検討したところ、患者ごとにばらつきはあるが発現がみられた。以上より、MAPK 経路の樹状細胞・表皮/神経細胞の機能制御への關与、実際の AD 皮膚での発現を考えると、MAPK 経路は AD の魅力的な治療ターゲットになりうると考えられる。そこで本研究では、AD 患者皮膚における MAPK 経路の発現、AD マウスモデルでの各種 MAPK 阻害薬外用の効果の検討、表皮細胞・樹状細胞を用いて各種 MAPK 阻害薬の機能への影響を明らかにすることで、各種 MAPK 阻害薬の AD の新規治療薬としての可能性検証のための基礎データ構築を目的とする。

3. 研究の方法

1) ヒト AD 皮膚での各種 MAPK の発現の検討

以前皮膚生検を施行した AD 皮膚を用いて、各種 MAPK の染色を行う。

2) AD モデルマウスの各種 MAPK 発現の解析

本研究では、ダニ抗原塗布 AD モデルマウスを用いる。マウス AD 皮膚での各種 MAPK の発現を解析する。

3) AD モデルマウスへの各種 MAPK 阻害薬外用の治療効果の検討

AD モデルマウスを用いて、各種 MAPK 阻害薬を外用し、以下の項目について検討する

皮疹スコア 病理学的検討 (表皮肥厚、炎症細胞浸潤、フィラグリン発現、神経の伸長)
搔破行動の測定 バリア機能 (TEWL) の測定

4) in vitro で表皮細胞、樹状細胞、T 細胞、神経細胞への各種 MAPK 阻害薬の効果の検討

ヒト表皮細胞株を IL-4 で刺激し、各種 MAPK 阻害薬のフィラグリン、ロリクリン発現への影響を解析する。マウス骨髓由来 DC を IL-4 で刺激し、サイトカイン産生、ケモカイン産生を PCR、ELISA で検討する。

4. 研究成果

ヒト AD における各 MAPK 経路の発現を調べたところ、p38MAPK、JNK、ERK のうち p-ERK のみ発現増強がみられた。そこで、ダニ抗原塗布アトピー性皮膚炎モデルマウスにても同様の検討を行ったところ、マウスアトピー性皮膚炎モデル皮膚においても p38MAPK、JNK、ERK のうち p-ERK のみ発現増強がみられた。そこでまず、マウスダニ抗原塗布アトピー性皮膚炎モデルに対する ERK 阻害剤の効果を検討した。マウスダニ抗原塗布 AD モデルに ERK 阻害剤を外用すると、表皮の p-ERK 発現が低下し、外用が実際に皮膚で効果を発現しうることを明らかにした。マウスダニ抗原塗布 AD モデルの様々な皮膚症状スコアは、ERK 阻害剤外用により有意に改善した。病理学的検討では、ERK 阻害剤は表皮肥厚、炎症細胞浸潤を改善し、TEWL 測定ではバリア機能を改善させることが分かった。しかし、搔破行動の抑制はみられなかった。さらに、ERK 阻害剤の表皮細胞や樹状細胞の機能への作用を in vitro の実験で確認したところ、ERK 阻害剤は IL-4 刺激による表皮細胞のフィラグリン発現減少を回復させ、IL-4 刺激による樹状細胞からの TARC 産生を低下させた。これらの結果から、MAPK 経路の中でも ERK 経路が AD の病態に關与している可

能性が示唆された。さらにこれらの結果は、ERK 阻害剤外用が、AD の新しい治療薬となりうることを示唆していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Zeze Nahoko, Kido-Nakahara Makiko, Tsuji Gaku, Maehara Eriko, Sato Yuki, Sakai Sawako, Fujishima Kei, Hashimoto-Hachiya Akiko, Furue Masutaka, Nakahara Takeshi	4. 巻 23
2. 論文標題 Role of ERK Pathway in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis and Its Potential as a Therapeutic Target	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3467 ~ 3467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23073467	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 -

〔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
---------	---------