

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：14101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670528

研究課題名(和文) Hsp90阻害による炎症性皮膚疾患の新規低分子治療薬の開発

研究課題名(英文) Novel low molecular drugs for inflammatory skin disease by inhibiting Hsp90

研究代表者

欠田 成人 (Kakeda, Masato)

三重大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：00422866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：今回我々は、代表的炎症性皮膚疾患である尋常性乾癬に対する新規低分子治療薬による治療法の開発をめざして、Heat shock protein (Hsp90) に着目して研究を行った。イミキモド誘発尋常性乾癬マウスモデルを用いて、すでにヒトにおいて抗がん剤として臨床試験が検討されているHsp90阻害薬を局所・全身投与することにより、皮膚症状スコア、皮膚の腫脹、乾癬関連サイトカインの抑制効果を得ることができた。本研究により、尋常性乾癬や、炎症性皮膚疾患に対する新たな局所・全身投与可能な新規治療法の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： We conducted a study for developing novel small molecular drugs for a resistant inflammatory skin disease: psoriasis vulgaris. Using the imiquimod-induced psoriasis vulgaris mouse model, topical and systemic administration of Hsp90 inhibitor, which has been already used for the clinical trials of human cancer. The Hsp90 inhibitor administration suppressed the clinical skin symptom scores, swelling of the skin and psoriasis-related cytokines expression. As a result, the present study demonstrated the possibility of a novel therapeutic strategy for psoriasis and related diseases using topical and systemic application of Hsp90 inhibitors.

研究分野：Skin Allergy

キーワード：Heat shock protein 90 尋常性乾癬

1. 研究開始当初の背景

Heat shock protein 90(Hsp90)は他の蛋白の正しい折りたたみを助ける分子シャペロンであり、細胞の増殖・生存に必要な様々な因子(転写因子や蛋白リン酸化酵素等)の機能発現や安定化を司る蛋白である。Hsp90が癌細胞において高発現している事から、Hsp90 阻害薬は癌細胞特異的に作用する利点を有し、すでに癌治療領域において臨床応用されている。我々は、乾癬を患った癌患者の治療に用いられた **Hsp90 阻害薬が、偶然にも患者の尋常性乾癬を消失させる効果**を発見した。この経験に着想を得て、ヒト尋常性乾癬における Hsp90 の発現を検討し、病変部表皮角化細胞および真皮肥満細胞の Hsp90 の発現上昇を見いだすと共に、生物学的製剤投与による臨床症状の軽快後、病巣で Hsp90 発現が正常化していることを発見した。また、*in vitro* においてこれらの細胞が、乾癬の発症や病態形成に関与する物理的的刺激や乾癬関連サイトカインにより Hsp90 の発現、分泌を促進する事を証明し、Hsp90 が乾癬病態に重要な役割を担っている事を示した。更に、Hsp90 阻害薬が角化細胞、肥満細胞の増殖抑制や、乾癬病態に密接に関わる抗菌ペプチド産生を抑制する事も証明した(*J Am Acad Dermatol* 70:683, 2014)。これらを背景に、次の段階としてヒトへの応用へ展開するため、乾癬の疾患モデルであるイミキモド(Imiquimod)外用マウスモデルを用いて、Hsp90 阻害薬の予防・治療効果を証明する基礎研究を着想した。

2. 研究の目的

尋常性乾癬は疾患感受性遺伝子や環境因子を背景に発症し、病変局所における種々の炎症性サイトカイン(IL-17, IL-22, IL-12, IL-23, IL-36, TNF- 等)が病態形成に関与する。乾癬の治療として従来局所療法(ステロイド、ビタミン D 外用、紫外線療法等)や非特異的免疫抑制剤(シクロスポリンやメソトレキセート等)など細胞毒性を持つ薬剤が中心であった。近年前述の乾癬関連サイトカインを特異的に阻害する抗体製剤などの全身投与が注目され各種注射薬の生物学的製剤が精力的に研究、実用化されている。尋常性乾癬では心血管系病変や、全身の炎症を伴うメタボリック症候群を伴うこと多く、薬剤の全身投与による皮膚と全身の炎症を改善する意義が注目されている、ただ、原因が多因子によると考えられる本疾患において、単一のサイトカインの阻害だけでは限界があり、併用療法が必要 患者のQOLに直接影響する皮膚病変の局所制御の重要性 大多数の軽症患者に対する安価でリスクの少ない"マイルド"な治療法(免疫調整)の開発も重要な課題であり、新規の全身および局所投与可能な small compound 薬剤の開発が望まれている。

本研究は Hsp90 阻害薬の持つ潜在的抗炎症

作用と低分子治療薬の持つ全身、局所投与可能な特性を利用した新規治療法の開発である。本研究においては、全身、局所投与双方において疾患予防・治療効果が得られると予想され、この結果から多くの炎症性皮膚疾患へのターゲティング:皮膚(部位)特異的、あるいは炎症(病態)特異的治療が可能となる。特筆すべき点は、多くの Hsp90 阻害薬は分子量 300-600kDa の低分子量化合物であり、これらは炎症によって皮膚バリアが破壊された部位には容易に浸透するが、炎症が治癒しバリアの回復した部位には浸透しにくいという特性を持つため、局所外用によって炎症部位特異的に働き、副作用を軽減できるという利点を持つ。Hsp90 阻害薬の内服治療はすでに癌治療で使用されており、ヒトへの臨床応用の実現性が高く、炎症性皮膚疾患に対する新規の治療法としての研究開発の意義は非常に高いと考えた。

3. 研究の方法

ヒト乾癬皮膚における Hsp90 発現増加や Hsp90 阻害薬の *in vitro*での効果等のこれまでの研究成果を基盤とし、マウスモデルを用いて生体レベルでの Hsp90 阻害薬による炎症性皮膚疾患に対する新規の予防・治療法の確立を目指す。具体的には Imiquimod 外用乾癬モデルマウス(C57/BL6 マウス及び BALB/C マウスに Imiquimod を連日(day1-6)背部もしくは耳介に外用し作成。*J Immunol* 2009)を用い、Hsp90 阻害薬の全身(具体的には腹腔内投与)、経皮投与を行い、臨床症状や、皮疹・無疹部における各浸潤細胞、サイトカインを詳細に解析し、Hsp90 阻害薬の予防・治療効果のメカニズムを探ることとした。

4. 研究成果

イミキモド連日外用による実験的乾癬モデルマウスによる系を作成し、皮膚症状スコア(紅斑、浸潤、鱗屑など)、耳介の厚さを測定、皮膚局所の浸潤細胞、サイトカイン発現を検討した。Hsp90 阻害薬の疾患予防効果を見るために、様々な Hsp90 阻害薬のうち、17-AAG(17-N-allylamino-17-demethoxygeldanamycin)を選定した。

Th2サイトカイン優位とされる BALB/C マウスにおいても、Th1 サイトカイン優位とされる C57/BL6 マウスにおいても、17-AAG の全身(腹腔内)投与により、イミキモド誘発の皮膚症状スコア、耳介の腫脹(浮腫や炎症細胞浸潤)を有意に抑制することができた。また、局所外用投与においては、有意差はえられなかったが、皮膚症状、耳介の厚さが抑制された。

上記の皮膚炎症抑制効果のメカニズムを解明するために、皮膚局所の各種乾癬関連サイトカインの発現を解析した。17-AAG の腹腔内投与は、イミキモド連日外用による IL-1b、IL-6、IL-10、IL-17、IL-22 の発現増加効果を抑制する傾向が見られた。また、イミキモ

ド外用による IL-13 発現抑制効果を解除する効果が見られた。上記のサイトカイン抑制効果は有意差が見られず、臨床的な抗炎症効果は、測定した以外のサイトカイン由来の可能性があり、追加検索を行っている。なお、上記の乾癬関連サイトカイン抑制効果は 17-AAG 局所外用治療でもみられた。

なお、17-AAG はすでにヒトで抗がん剤として臨床応用が検討されている薬剤であるが、マウスに対する全身および局所投与による明らかな有害事象と思われる所見は出現せず、今後ヒトへの応用を検討する際に重要なアドバンテージと考えられる。

上述の結果は、今後学会での発表を予定しており、その研究課程やコンセプト等は、適宜後述の邦文、英文論文や、国際学会を含めた各種学会にて報告している。

なお、当初予定していた皮膚局所リンパ節のサイトカイン発現や、脾臓でのサイトカイン発現の検討や、当科で作成した急性型・慢性型アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた Hsp90 阻害薬による皮膚炎発症予防・治療効果についても、今後研究を継続したいと考えている。

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 6 件)

Yamanaka K, Mizutani H, "Inflammatory skin march": IL-1-mediated skin inflammation, atopic dermatitis, and psoriasis to cardiovascular events, *Journal of Allergy Clin Immunol*, 査読有り, 136 巻, 2015, 823-824
DOI : 10.1016/j.jaci.2015.06.009

M. Kakeda, M. Arock, C. Schlapbach, N. Yawalkar, Increased expression of heat shock protein 90 in keratinocytes and mast cells in psoriasis, *Journal of American Academy of Dermatology*, 査読有り, 70 巻, 2014, 683-690
DOI : 10.1016/j.jaad.2013.12.002

M. Kakeda, Christoph Schlapbach, G. Danelon, M.M. Tang, V. Cecchinato, N. Yawalkar, M. Ugucioni, Innate immune cells express IL-17A/F in acute generalized exanthematous pustulosis and generalized pustular psoriasis, *Archives of Dermatological Research*, 査読有り, 306 巻, 2014, 933-938
DOI : 10.1007/s00403-014-1488-0

Yamanaka K, Nakanishi T, Saito H, Maruyama J, Isoda K, Yokochi A, Imanaka-Yoshida K, Tsuda K, Kakeda M, Okamoto R, Fujita S,

Iwakura Y, Suzuki N, Ito M, Maruyama K, Gabaza EC, Yoshida T, Shimaoka M, Mizutani H, Persistent release of IL-1s from skin is associated with systemic cardiovascular disease, emaciation and systemic amyloidosis: the potential of anti-IL-1 therapy for systemic inflammatory diseases, *PLoS One*, 査読有り, 9 巻, 2014, e104479
DOI : 10.1371/journal.pone.0104479

欠田成人, 山中恵一, 水谷 仁, IL-17 関連抗体と乾癬, 査読なし, *感染・炎症・免疫*, 44 巻, 2014, 158-161
URL:
<http://www.torii.co.jp/iyakuDB/data/publish/3i442.html>

欠田成人, 山中恵一, 水谷 仁, 尋常性乾癬と肥満細胞, 査読なし, *Visual Dermatology*, 14 巻, 2014, 72-73
URL:
<https://gakken-mesh.jp/journal/detail/9784780903621.html>

[学会発表](計 9 件)

Kakeda M, Omoto Y, Gyobu M, Habe K, Yamanaka K, Muro Y, and Mizutani H, Anti-NXP-2(MJ) antibody-positive dermatomyositis developing severe dysphagia and immune thrombocytopenic purpura with generalized subcutaneous edema: a case report, 25th European Academy of Dermatology and Venereology Congress, 2016 年 09 月 28 日~2016 年 10 月 02 日, オーストリア, ウィーン

欠田成人, 森如, 尾本陽一, 山中恵一, 磯田憲一, 井上織部, 杉本恭子, 水谷仁, ラモトリギンとアセトアミノフェンによる Toxic Epidermal Necrolysis の 1 例: HLA-B*4403 保有例, 日本アレルギー学会総会, 2016 年 06 月 17 日~2016 年 06 月 19 日, 当局国際フォーラム, 東京

欠田成人, 尾本陽一, 刑部全晃, 波部幸司, 山中恵一, 水谷仁, ITP, 四肢の著明な浮腫、嚥下障害を生じた皮膚筋炎の 1 例, 日本皮膚科学会総会, 2016 年 06 月 03 日~2016 年 06 月 05 日, 国立京都国際会館, 京都府, 京都市

欠田成人, 森如, 尾本陽一, 山中恵一, 磯田憲一, 井上織部, 杉本恭子, 水谷仁, 免疫グロブリン療法が奏功した Toxic Epidermal Necrolysis の 1 例, 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会, 2015 年 10 月 31 日

～2015年11月01日、島根県民会館、島根県、松江

R. Thomi, M. Kakeda, N. Yawalkar, R.E. Hunger, IL-36 expression in hidradenitis suppurativa, 96. Jahresversammlung der SGDV, 2015年09月04日～2015年09月06日、スイス、バーゼル

欠田成人, Christoph Schlapbach, G. Danelon, M.M. Tang, V. Ceccinato, N. Yawalkar, M. Ugucioni, 急性汎発性発疹性膿疱症と膿疱性乾癬では、自然免疫細胞がIL-17A/Fを発現する、日本アレルギー学会、2015年05月26日～2015年05月28日、グランドプリンスホテル新高輪、東京

M. Kakeda, Christoph Schlapbach, G. Danelon, M.M. Tang, V. Cecchinato, N. Yawalkar, M. Ugucioni, Innate immune cells express IL-17A/F in acute generalized exanthematous pustulosis and generalized pustular psoriasis, 24th European Academy of Dermatology and Venereology Congress, 2015年03月05日～2015年03月08日、スペイン、バレンシア

M. Kakeda, M. Arock, H. Mizutani, C. Schlapbach, N. Yawalkar, Increased expression of heat shock protein 90 in keratinocytes and mast cells in psoriasis, 23rd European Academy of Dermatology and Venereology Congress, 2014年10月08日～2014年10月12日、オランダ、アムステルダム

欠田成人, Christoph Schlapbach, G. Danelon, M.M. Tang, V. Ceccinato, N. Yawalkar, M. Ugucioni, 急性汎発性発疹性膿疱症と膿疱性乾癬では自然免疫細胞がIL-17を発現する、日本皮膚科学会総会、2014年05月30日～2014年06月01日、国立京都国際会館、京都府、京都市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

欠田 成人 (KAKEDA, Masato)
三重大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：00422866

(2) 研究分担者

水谷 仁 (MIZUTANI, Hitoshi)
三重大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：30115737

山中 恵一 (YAMANAKA, Keiichi)
三重大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：70314135

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

山際 秋沙 (YAMAGIWA, Akisa)
Nikhil Yawalkar