

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 8 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19668

研究課題名(和文)自己抗原の枯渇を標的とした水疱性類天疱瘡の新規治療法開発

研究課題名(英文)Prevention of autoantigen depletion for bullous pemphigoid treatment

研究代表者

夏賀 健(Natsuga, Ken)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：70645457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：免疫とは、ウイルスや細菌などの外敵から自分を守るしくみである。しかし、免疫がひとたび異常になると、自分の細胞を攻撃するようになってしまう。この現象は自己免疫と呼ばれている。水疱性類天疱瘡は、皮膚の接着因子に対する自己免疫によって、全身の皮膚に水ぶくれができてしまう疾患である。本研究では、皮膚に対する抗体を皮膚細胞に投与した際、どのような変化が起きるかを網羅的に解析した。結果として、細胞内輸送に関わる分子が増加していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Immune system works against external pathogens such as viruses and bacteria. Once immune system does not function well, it targets our body cells. This phenomenon is called "autoimmunity". Bullous pemphigoid, an autoimmune disease in which skin attachment molecules are targeted, shows skin blisters on the whole body. We analyzed how skin cells respond to the treatment with antibodies against skin. As a result, the expression levels of molecules associated with intracellular trafficking were increased.

研究分野：皮膚科学

キーワード：自己抗体

1. 研究開始当初の背景

水疱性類天疱瘡 (bullous pemphigoid, BP) は、人口約 1 万人に 1 人が罹患し、全身の皮膚に水疱を呈する重篤な難治性皮膚疾患である。治療の第一選択肢であるステロイド等の免疫抑制療法は、治療の長期化と強い副作用をもたらすという問題点がある。

BP は表皮真皮間結合を担う 17 型コラーゲン (COL17) に対する自己抗体が自己抗原 (COL17) に結合することで水疱を形成し、発症する。これまで、自己抗体の結合から水疱形成に至る経路には、補体の活性化が必須であるとされてきたため、補体の活性化や抗体産生それ自体を抑制させるなど、非特異的な治療法の開発に終始してきた。

申請者は、自己抗体の結合に伴って自己抗原である COL17 が患者表皮細胞から枯渇し、これによって表皮真皮間の結合が弱くなって水疱を生じるといふ、新しい BP の病態を解明した (Natsuga K et al., J Immunol 2012)。

2. 研究の目的

本研究は、申請者らの成果を発展させて、自己抗体結合にともなう自己抗原 (COL17) の枯渇を標的とした病態特異的な新規治療法開発を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

正常ヒト表皮培養細胞 (NHEK) の培養液中に、BP 患者由来 IgG (BP IgG) と正常人由来 IgG (normal IgG) を加えて 24 時間 incubation した後、細胞から RNA 抽出した。抽出した RNA を agilent 社のマイクロアレイチップ Human 8x60K Ver2.0 で解析した。得られた生データを GeneSpring にてさらに解析した。BP IgG vs Normal IgG で、 $p < 0.05$ 、Fold change > 1.5 の遺伝子群を抽出した。

4. 研究成果

BP IgG 群で発現が上昇している遺伝子が 250 個ほど抽出された。これらのうち Gene Ontology (GO) が割り当てられているものについて、GO 解析を試みた。BP IgG 群で発現が上昇している遺伝子のうち、上位 5 つのカテゴリーは、metabolism (17%)、developmental processes (8.85%)、cell organization and biogenesis (8.09%)、transport (7.08%)、protein metabolism (5.06%) であった。BP IgG 群で発現が上昇している遺伝子群のうち、transport が 4 位に見られているのは、BP IgG が COL17 と結合した後に、COL17 が細胞内に取り込まれる事象と対応している可能性が高い。また、細胞内に取り込まれる COL17 は、細胞内で恐らくプロテアソームによって分解されることが想定されており、上位 1 位の metabolism や 5 位の protein metabolism の遺伝子群と密接に関わっている可能性が示唆される。

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 35 件)

- Shinkuma S, Masunaga T, Miyawaki S, Takashima S, Natsuga K, Nomura T, Fujita Y, Nakamura H, Shimizu H: A case of recessive dystrophic epidermolysis bullosa with a novel c.6885_6898del14 mutation in the COL7A1 gene. **J Dermatol Sci**, in press 査読有 doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.03.022
- Imafuku K, Iwata H, Kamaguchi M, Izumi K, Natsuga K, Ujii H, Nishie W, Shimizu H: Autoantibodies of non-inflammatory

- bullous pemphigoid hardly deplete type XVII collagen of keratinocytes.
Exp Dermatol, in press 査読有
doi: 10.1111/exd.13331
3. Yamaguchi Y, Fujita Y, Hirata Y, Nishimura M, Shinkuma S, **Natsuga K**, Hida T, Kato N, Shimizu H:
Psoriasiform mycosis fungoides masquerading as tumourous plaques.
Eur J Dermatol, in press 査読有
doi: 10.1684/ejd.2017.2971
4. Moriuchi R, Ito T, Kikuchi K, Nakashita N, Muramatsu R, **Natsuga K**, Shimizu H, Shimizu S:
Crusted impetigo-like eruption on the face: A case report of IgG/IgA pemphigus.
J Eur Acad Dermatol Venereol, in press 査読有
doi: 10.1111/jdv.14060
5. Muramatsu K, Ujiie H, **Natsuga K**, Nishie W, Shimizu H:
Lichenoid drug eruption caused by clonazepam.
J Eur Acad Dermatol Venereol 31:e117-e118, 2017 査読有
doi: 10.1111/jdv.13862
6. Cammarata-Scalisi F, **Natsuga K**, Toyonaga E, Nishie W, Shimizu H, Avendaño A, Araque D, Da Silva G, Bellacchio E, Callea M.
Early severe pachyonychia congenita subtype PC-K6a with a novel mutation in the KRT6A gene.
J Eur Acad Dermatol Venereol 31:e94-e96, 2017 査読有
- doi: 10.1111/jdv.13800
7. Iwata H, Ujiie H, Nishimura M, Izumi K, **Natsuga K**, Shinkuma S, Nishie W, Shimizu H:
Macropinocytosis of type XVII collagen induced by bullous pemphigoid IgG is regulated via protein kinase C.
Lab Invest 96:1301-1310, 2016 査読有
doi: 10.1038/labinvest.2016.108
8. **Natsuga K**:
Stem cell markers of skin appendages in human skin tumours.
Br J Dermatol 175:459, 2016 査読無
doi: 10.1111/bjd.14655
9. **Natsuga K**, Watt FM:
Galectin-6 is a novel skin anti-microbial peptide that is modulated by the skin barrier and microbiome.
J Dermatol Sci 84:97-99, 2016 査読有
doi: 10.1016/j.jdermsci.2016.06.008
10. Izumi K, Nishie W, Mai Y, Wada M, **Natsuga K**, Ujiie H, Iwata H, Shimizu H:
Autoantibody profile differentiates between inflammatory and non-inflammatory bullous pemphigoid.
J Invest Dermatol 136:2201-10, 2016 査読有
doi: 10.1016/j.jid.2016.06.622
11. Muramatsu K, Nishie W, **Natsuga K**, Fujita Y, Iwata H, Yamada T, Yamashita E, Asaka T, Shimizu H:
Two cases of erosive oral lichen planus with non-pathogenic autoantibodies to desmoglein 3.
J Dermatol 43:1350-1353, 2016 査読有

doi: 10.1111/1346-8138.13493

12. Fujita Y, Shinkuma S, Matsumura W, **Natsuga K**, Hata H, Nomura T, Shimizu H:
Silicone medical adhesive removers for hyperkeratosis in epidermolysis bullosa.
Eur J Dermatol 26:501-502, 2016 査読有
doi: 10.1684/ejd.2016.2817
13. Miyauchi T, Nomura T, Suzuki S, Ohguchi Y, Yamaguchi Y, Shinkuma S, **Natsuga K**, Fujita Y, Shimizu H:
Extensive erythema and hyperkeratosis on the extremities and lumbar area as an unusual manifestation of Nagashima-type palmoplantar keratosis.
Acta Derm Venereol 96:856-8, 2016 査読有
doi: 10.2340/00015555-2391
14. Wada M, Nishie W, Ujiie H, Izumi K, Iwata H, **Natsuga K**, Nakamura H, Kitagawa Y, Shimizu H:
Epitope-dependent pathogenicity of antibodies targeting a major bullous pemphigoid autoantigen collagen XVII/BP180.
J Invest Dermatol 136:938-946, 2016 査読有
doi: 10.1016/j.jid.2015.11.030
15. Nishimura M, Nishie W, Shirafuji Y, Shinkuma S, **Natsuga K**, Nakamura H, Sawamura D, Iwatsuki K, Shimizu H:
Extracellular cleavage of collagen XVII is essential for correct cutaneous basement membrane formation.
Hum Mol Genet 15:328-39, 2016 査読有
16. Watanabe M, **Natsuga K**, Ota M, Ito K:
Pyoderma gangrenosum associated with acute respiratory distress syndrome.
Am J Med 129:e17-8, 2016 査読有
doi: 10.1016/j.amjmed.2015.08.035
17. Nakazato S, Nomura T, Yamane S, Shinkuma S, **Natsuga K**, Fujita Y, Arita K, Shimizu H:
Nodular morphea: report of the first case associated with linear morphea.
Eur J Dermatol 26:95-6, 2016 査読有
doi: 10.1684/ejd.2015.2656
18. **Natsuga K**, Cipolat S, Watt FM:
Increased bacterial load and expression of antimicrobial peptides in skin of barrier-deficient mice with reduced cancer susceptibility.
J Invest Dermatol 136:99-106, 2016 査読有
doi: 10.1038/JID.2015.383
19. Watanabe M, **Natsuga K**, Arita K, Abe R, Shimizu H:
Generalized acute subcutaneous edema as a rare cutaneous manifestation of severe dermatomyositis.
J Eur Acad Dermatol Venereol 30:e151-2, 2016 査読有
doi: 10.1111/jdv.13460
20. Hayashi R, **Natsuga K**, Watanabe M, Iwata H, Shinkuma S, Ito A, Masui Y, Ito M, Shimomura Y:
Epidermolysis bullosa acquisita develops in dominant dystrophic epidermolysis

有

doi: 10.1093/hmg/ddv478

- bullosa.
J Invest Dermatol 136:320-3, 2016 査読有
doi: 10.1038/JID.2015.370
21. Haga N, Iwata H, Yamaguchi Y, Shirato T, Nishimura K, Yamane N, Shinkuma S, **Natsuga K**, Kondo T, Shimizu H: Mucocutaneous pyoderma gangraenosa due to trisomy 8 neutrophilic infiltrates in a patient with myelodysplastic syndrome.
Br J Dermatol 174:239-41, 2016 査読有
doi: 10.1111/bjd.14102
22. Hata H, **Natsuga K**, Kitamura S, Imafuku K, Yamaguchi Y, Ebihara Y, Shichinohe T, Hirano S, Shimizu H: Concomitant neoplasms in skin and stomach unveil the role of type IV collagen and E-cadherin in MUC5AC expression in vivo.
Br J Dermatol 174:395-7, 2016 査読有
doi: 10.1111/bjd.14084
23. Fujimura Y, **Natsuga K**, Hamade Y, Nomura Y, Kaku Y, Muramatsu R, Shimizu H: Anti-laminin-gamma 1 pemphigoid with generalized pustular psoriasis and psoriasis vulgaris.
Acta Dermato-Venereol 96:120-1, 2016 査読有
doi: 10.2340/00015555-2168
24. Hata H, Kitamura S, Inamura Y, Imafuku K, Homma E, Muramatsu K, **Natsuga K**, Abe R, Shimizu H: mTOR expression correlates with invasiveness and progression of extramammary Paget's disease.
J Eur Acad Dermatol Venereol 30:1238-9, 2016 査読有
doi: 10.1111/jdv.13168
25. Imafuku K, Hata H, Inamura Y, Kitamura S, **Natsuga K**, Iwata H, Shimizu H: Verrucous hyperplasia associated with neuropathy from schistorrhachis.
J Eur Acad Dermatol Venereol 30:876-8, 2016 査読有
doi: 10.1111/jdv.13042
26. Imafuku K, **Natsuga K**, Aoyagi S, Shimizu H: Mucosal hyperpigmentation from prophylactic minocycline for EGFR inhibitor.
J Eur Acad Dermatol Venereol 30:690-2, 2016 査読有
doi: 10.1111/jdv.12978
27. Kitamura S, **Natsuga K**, Imafuku K, Homma E, Yamane N, Aoyagi S, Matsumura T, Shimizu H: Metal implant-induced skin ulcer mimicking scrofuloderma.
J Eur Acad Dermatol Venereol 30:449-50, 2016 査読有
doi: 10.1111/jdv.12825
- [学会発表](計 5 件)
1. **Natsuga K**, Watanabe M, Nishie W, Shimizu H: Characterization of non-hemidesmosomal collagen XVII in basal keratinocytes.
41th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology

(JSID), 仙台国際センター(宮城県・仙台市), 2016.12.

2. **Natsuga K:**

Organization of the Basement Membrane Zone: Implications for Epidermolysis Bullosa.

115th Annual Meeting of the Japanese Dermatological Association (JDA), 京都国際会館(京都府・京都市), 2016.06

3. **夏賀 健:**

表皮細胞の分化・増殖における基底膜の役割.

第 115 回日本皮膚科学会総会 京都国際会館(京都府・京都市), 2016.06

4. **夏賀 健:**

アトピー性皮膚炎/魚鱗癬における細菌叢と抗菌ペプチド.

第 115 回日本皮膚科学会総会 京都国際会館(京都府・京都市), 2016.06

5. **Natsuga K,** Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Watanabe M, Kambe N, Hatamochi A, Kimura U, Suga Y, Shimizu H:

A single laminin subunit deficiency alters other laminin expression depending on the mutated genes.

40th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (JSID), 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市), 2015.12.

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 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 0 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

夏賀 健(NATSUGA, Ken)

北海道大学・北海道大学病院・講師

研究者番号: 70645457

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

渡邊 美佳(Watanabe, Mika)

北海道大学・大学院医学研究科・大学院生

藤村 悠(Fujimura, Yu)

北海道大学・大学院医学研究科・大学院生