

令和元年6月11日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10168

研究課題名(和文)慢性そう痒性皮膚疾患の難治化機序の解明と新規治療薬の開発

研究課題名(英文) Study of the mechanism of intractable chronic pruriginous skin disease and development new therapeutic drug for these diseases.

研究代表者

相原 道子 (Aihara, Michiko)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：90231753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎(AD)患者ではペリオスチン(P0)の発現が皮膚で亢進しており、血清値と重症度との間に相関がみられる。本研究ではADにおけるP0の発現異常と神経成長関連因子および各種炎症性サイトカイン異常との関係について明らかにし、さらにADの新規バイオマーカーを探索した。またADの新規治療薬の開発を目指した。その結果、ADにおけるP0の炎症増強作用が示されたがかゆみ神経との関係は明らかではなかった。ケラチンサイトが産生するSCCA2はADの慢性化の指標やかゆみの難治化、治療効果予測のバイオマーカーとして使用可能であった。コラーゲントリペプチドはADの治療に有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペリオスチンはサイトカイン産生を介してADの炎症増強に関与することが示されたが、加えて血清SCCA2も難治性ADのバイオマーカーとして有用なことが示されたことから、これらを組み合わせることで測定することにより、より精度の高いADのバイオマーカーとなることが期待される。さらにコラーゲントリペプチドのヒト細胞へのTh2抑制効果やAD患者への投与による有効性が示されたことからADの補助治療としてコラーゲントリペプチドの有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the role of periostin (P0) in atopic dermatitis (AD) and develop a new biomarker and therapy for AD. It was revealed that P0 may directly interact not only with keratinocytes but also with fibroblasts and immune cells to exacerbate inflammation in AD. Serum squamous cell carcinoma antigen (SCCA) 2 levels reflected disease severity and clinical type of AD. SCCA2 in combination with P0 may thus be a useful biomarker for AD. Collagen tripeptide (CTP), a functional collagen fraction with a high content of Gly-X-Y tripeptides, was investigated for AD treatment. Th2 cytokine productions were inhibited significantly by CTP treatment under AD-like inflammation in human keratinocytes. In the clinical trial, skin inflammation and serum TARC level at week 12 were reduced significantly compared with the initial values in the CTP treated patients. Therefore, CTP may have therapeutic benefit for AD by inhibiting type 2 skewed allergic inflammation.

研究分野：薬疹、アトピー性皮膚炎、皮膚アレルギー

キーワード：アトピー性皮膚炎 かゆみ コラーゲントリペプチド セマフォリン ペリオスチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) これまでの研究で、我々はそう痒性皮膚疾患において表皮内神経伸長と神経反発因子であるセマフォリン 3A(Sema3A)の発現低下および神経成長因子(NGF)の発現亢進との関係がみられ、Sema3A の投与や発現誘導が痒疹の改善に結びつくことを示してきた。一方、アトピー性皮膚炎患者(AD)では periostin の発現が皮膚で亢進しており、血清 periostin 値と重症度と相関がみられることを報告した (Kou K, et al, Br J Dermatol.2014)。さらに痒みの著しい AD 患者にシクロスポリンを投与することにより、皮疹の軽快に先立ってかゆみの軽減と血中 periostin の低下を認めたことから、periostin は炎症の増強に関わるだけでなくかゆみのメカニズムに何らかの関与をしている可能性を推察している。しかし、これまでかゆみと periostin 発現異常との関係は明らかにされていない。また AD の臨床型と periostin の関係も明らかにされていない。

(2) AD のバイオマーカーとしては TARC が臨床ではもっとも有用として用いられているが、必ずしも重症度と一致しない症例もみられ、あらたなバイオマーカーと既存のバイオマーカーの組み合わせによるより精度の高いバイオマーカーの開発が望まれる。われわれは Squamous cell carcinoma antigen 2(SCCA2)が乾癬のバイオマーカーになりうることを報告した (Watanabe Y et al, Br J Dermatol 2016)。AD のバイオマーカーとしての有用性についての詳細な検討はなされていない。

(3) AD はステロイド剤や免疫抑制剤で治療されるが、それらによってもコントロール不良の難治例が未だに少なからず存在する。日常診療で使用しやすい副作用の少ない治療薬の開発が望まれる。我々はこれまでケラチノサイトトリペプチド(CTP)の培養細胞や乾癬マウスモデルに投与し、ケラチノサイトの Sema3A と NGF の発現異常を是正し、皮膚における神経伸長を抑え、痒みを抑制することに成功した。これは、Sema3A 発現を皮膚に誘導する物質を経口投与することによる痒みの新規治療を初めて示唆したものである。(Okawa T, et al, J Dermatol Sci 2012)。

2. 研究の目的

(1) AD やそう痒性皮膚疾患における periostin の発現異常とかゆみや Sema3A や NGF といった神経成長関連因子および各種炎症性サイトカイン異常との関係について明らかにし、治療に結びつく病態解明を目指す。

(2) AD の病態を表す新規バイオマーカーを開発する。具体的には SCCA2 の AD のバイオマーカーとしての可能性を明らかにする。

(3) 病態に基づく日常診療で使いやすい AD や痒疹性皮膚疾患の新規治療薬の開発を目指す。具体的には新規治療薬としての CTP の有用性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) periostin 刺激の培養細胞や末梢血細胞における影響：1.培養ヒト線維芽細胞およびケラチノサイトをリコンビナント periostin 単独または TEN- などの炎症性サイトカインで共刺激し、軸索ガイダンス分子 (Sema3A、NGF) の発現変化を Western blotting によりタンパクレベルで、PCR や Immunoblotting を用いて mRNA レベルで明らかにする。また、培養液中のこれらのタンパク量を ELISA 法で測定する。

2. Periostin が PBMC に直接作用して炎症性サイトカイン産生に影響するかを AD 患者とその他の痒疹性皮膚疾患患者および健常人の末梢血を用いて確認する。末梢血は LPS と共刺激し、刺激条件を変化させながら TNF-、IL-1、IL-18 ほかのサイトカインの産生を上記の方法でタンパクレベルおよび mRNA レベルで確認する。

(2) AD 患者の SCCA1 および SCCA2 の発現と治療による変化：SCCA1 および SCCA2 の表皮での発現を確認するとともに血液中の濃度を測定し、重症度、病型、他のマーカーとの関係を見る。治療経過とともに変化するかを 2~3 ヶ月間隔で測定し、確認する。対象には乾癬患者、健常人の血中 SCCA2 を測定して用いる。AD の慢性化のバイオマーカーとして SCCA2 と periostin、TARC と比較し、AD による炎症以外のファクターの関与をそれぞれ比較する。

(3) CTP の AD における効果発現の機序の解析と臨床的効果の検討：1.培養ケラチノサイト、培養線維芽細胞、三次元皮膚モデルに IL-13、TNF-、INF- を加えて TSLP、TARC/CCL17、MDS/CCL22 などのサイトカインと periostin、Sema3A の産生をタンパクおよび mRNA レベルでみる。それに CTP を添加培養し、これらの細胞の上記物質の産生に与える影響をみる。さらに末梢血単核細胞を用いた上記ケラチノサイト培養上清による遊走試験を行い、その効果を見る。

2. CTP のレセプターであるペプチドトランスポーターである PEPT1 と PEPT2 がケラチノサイト上に発現していることはこれまでの実験で確認したが、それらのレセプターの発現が

IL-13、TNF- α 、INF- γ により増強するかを培養ケラチノサイトでタンパクレベルおよび mRNA レベルでみる。さらに、PEPT1 と PEPT2 の下流のシグナル伝達経路における STAT や NF- κ B の関与を明らかにする。

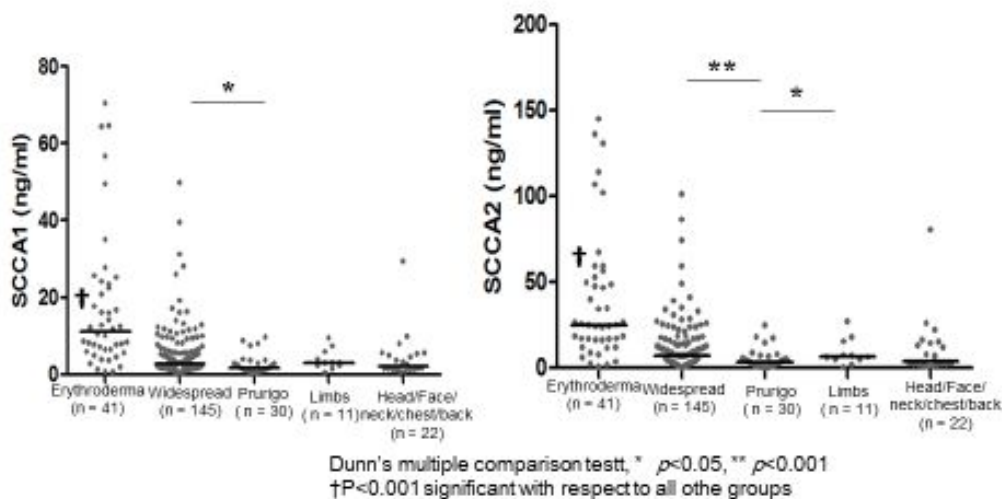
3. AD 患者に二重盲検法で濃縮 CTP 製剤を 8~12 週間経口投与し、2 週間ごとに痒みや炎症、乾燥のレベルをモニターし、それらの抑制効果をみる。対象としては低濃度 CTP を投与する。

4. 研究成果

(1) periostin の AD の病態やかゆみにおける役割：培養ヒト線維芽細胞およびケラチノサイトをリコンナント periostin 単独または periostin と TEN- α で共刺激したところ、Sema3A、NGF の発現はタンパクレベルや mRNA レベルでいずれの細胞も periostin 単独刺激では変化はなかった。一方 periostin と TEN- α の共刺激ではいずれの細胞も NGF と Sema3A の変化をみたが有意な変化ではなかった。また末梢血に periostin と LPC との共刺激を加え培養したところ、AD 患者では健常人 と比べて IL-18 と TNF- α の mRNA の発現が上昇したが、IL-1 α 、IL-6、IL-8 は上昇しなかった。periostin 受容体であるインテグリン の発現増加率は AD 患者の末梢血で高かった。以上より AD における periostin の炎症増強作用が推察されたが、かゆみ神経との関係は示されなかった。

(2) 血清 SCCA1 および SCC2 は AD 患者の表皮での発現亢進と血中濃度の上昇がみられた。臨床病変としては、いずれも皮疹の面積および重症度と相関していた。また、苔癬化病変のみられる患者で血中濃度は有意に高かった。これらは年齢や急性感染症の影響を受けにくいことが示された。以上と、SCCA2 は SCCA1 と違い悪性腫瘍(扁平上皮癌)の存在の影響を受けにくいことから、SCCA2 は重症度と慢性化/苔癬化の有効なマーカーとなりうることを示された。さらに治療により低下することから治療効果判定のバイオマーカーとして使用可能であることが示された (Allergol Internatioal 2018)。

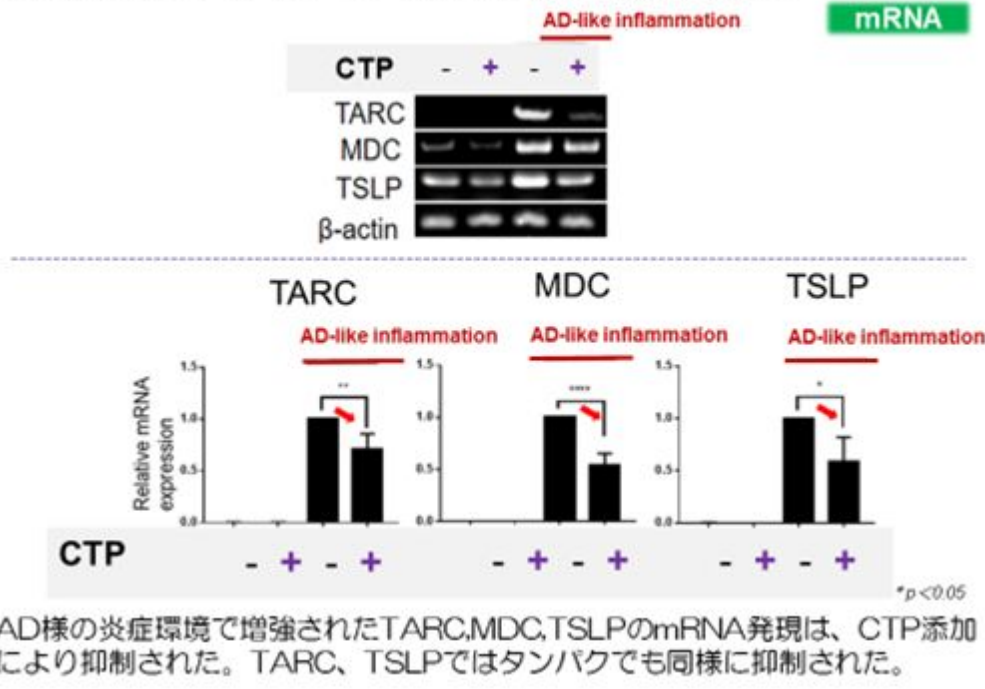
SCCA1 and 2 levels in AD patients.



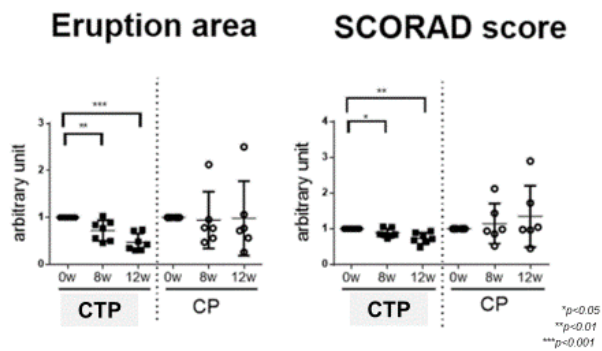
Erythroderma type followed by widespread type had increased levels of SCCA1 and 2 compared to other clinical types of AD.

(3) コラーゲントリペプチド (CTP) の AD における効果:培養ケラチノサイトと線維芽細胞に CTP と TNF- α 、INF- γ 、IL-3 を添加し培養した結果、TSLP、TARC/CCL17、MDS/CCL22 の産生が低下したが Sema3A と NGF については一定の傾向は見られたものの有意な変化はみられなかった。末梢血単核細胞を用いた上記ケラチノサイト培養上清による遊走試験では、CTP 添加培養上清において遊走能の亢進がみられた。CTP がレセプターに結合した後の細胞内シグナル伝達については STAT-1 の関与が明らかになった。AD 患者において CTP 製剤を 12 週間経口投与し、濃縮製剤 (CTP 製剤) でコラーゲンペプチド製剤 (CP 製剤) と比較したところ、CP 製剤では有意な変化はみられなかったが、CTP 製剤では 12 週間の時点で痒みや重症度 (皮疹面積、SCORAD) 血清 TARC 値に有意な低下をみた。以上より、CTP 製剤は AD の治療に有用であることが示唆された (J Dermatol Sci 2017)。

CTPがサイトカイン・ケモカイン産生に与える影響

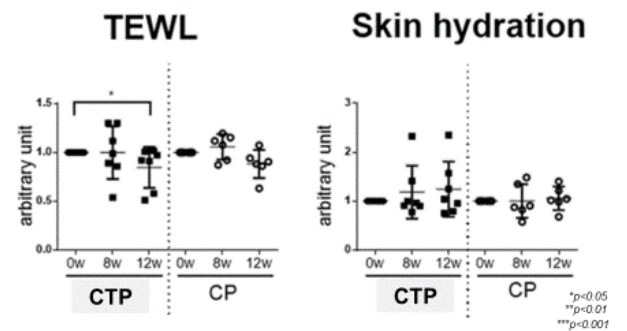


AD患者に対するCTP内服試験



CTP内服群で、皮膚面積が減少、SCORADが有意に低下していた。

AD患者に対するCTP内服試験



CTP内服群でTEWLが内服終了時に有意差を持って低下していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. 高村直子, 山口由衣, 相原道子: アトピー性皮膚炎のバイオマーカー. 臨床免疫・アレルギー科, 70(3):242-248, 2018. 査読なし.
2. Okawa T, Yamaguchi Y, Kou K, Ono J, Koumitsu N, Inoue Y, Kohno M, Matsukura S, Kambara T, Ohta S, Izuhara K, Aihara M: Serum levels of squamous cell carcinoma antigens 1 and 2 reflected disease severity and clinical types of atopic dermatitis in adult patients. Allergol Int, 67:124-130, 2018. doi: 10.1016/j.alit.2017.06.016. 査読有.
3. Katayama I, Aihara M, Ohya Y, Saeki H, Shimojo N, Shoji S, Taniguchi M, Yamada H, Japanese Society of Allergology: Japanese guidelines for atopic dermatitis 2017. Allergol Int, 66(2):230-247, 2017. doi: 10.1016/j.alit.2016.12.003. 査読なし.
4. Hakuta A, Yamaguchi Y, Okawa T, Yamamoto S, Sakai Y, Aihara M: Anti-inflammatory effect of collagen tripeptide in atopic dermatitis. J Dermatol Sci, 88:357-364, 2017. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.09.002. 査読有.
5. 小越達也, 池田信昭, 馬場直子, 相原道子: アトピー性皮膚炎を合併した Costello 症候群. 皮膚病診療, 39(8): 829-832, 2017. 査読有.

6. 相原道子：アトピー性皮膚炎のバイオマーカー - 新規バイオマーカーとしてのペリオスチンと SCCA の役割. アレルギーの臨床, 37(14):37-41, 2017. 査読なし.
7. Watanabe Y, Yamaguchi Y, Komitsu N, Ohta S, Azuma Y, Izuhara K, Aihara M. Elevation of serum squamous cell carcinoma antigen 2 in patients with psoriasis: associations with disease severity and response to the treatment. Br J Dermatol, 174(6):1327-1336, 2016. doi: 10.1111/bjd.14426. 査読有.
8. 相原道子：アトピー性皮膚炎の病態に基づいた新たなアプローチ 経皮食物感作と食事指導. アレルギー・免疫, 23(2):218-225, 2016. 査読なし.
9. 相原道子：経皮感作とアレルギー. 職業・環境アレルギー誌, 23(2):1-8, 2016. 査読なし.
10. 松倉節子, 相原道子：特集 高齢者のアレルギー性疾患の治療と管理 加齢と皮膚の生理機能：バリア機能障害. アレルギーの臨床, 36(10):945-949, 2016. 査読なし.

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 長谷川俊史, 本村知華子, 金子 栄, 澄川靖之, 相原道子, 藤澤隆夫：小児アトピー性皮膚炎患者における慢性掻破への対応に関する調査. 第 55 回日本小児アレルギー学会学術大会, 岡山, 2018,10,20.
2. 澄川靖之, 金子 栄, 長谷川俊史, 本村知華子, 藤澤隆夫, 相原道子：慢性掻破を伴う小児アトピー性皮膚炎患者に対する皮膚科・小児科の対応についての調査. 第 48 回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会, 奈良, 2018,11,17.
3. 向所純子, 猪又直子, 白田阿美子, 小田香世子, 金岡美和, 大川智子, 渡邊裕子, 侯 健全, 河野克之, 相原道子：アトピー性皮膚炎教育入院による臨床症状及び疾患関連因子の変動の解析. 第 117 回日本皮膚科学会総会, 広島, 2018,6,1.
4. Hakuta A, Yamaguchi Y, Okawa T, Yamamoto S, Sakai Y, Aihara M : Collagen tripeptide may modulate inflammation of atopic dermatitis. 2017 Annual Meeting, Society of Investigative Dermatology (SID), Oregon, 2017,4,27.
5. Kanaoka M, Yamaguchi Y, Koumitsu N, Arima K, Izuhara K, Aihara M : Pro-fibrotic Phenotype of Human Skin Fibroblasts Induced by Periostin via Modulating TGF- β Signaling. The European Society for Dermatological Research (ESDR), Salzburg, 2017,9,29.
6. Kanaoka M, Yamaguchi Y, Koumitsu N, Arima K, Izuhara K, Aihara M : Pro-fibrotic Phenotype of Human Skin Fibroblasts Induced by Periostin via Modulating TGF-Signaling. The 42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (JSID), Kochi, 2017,12,17.
7. Yamaguchi Y, Shirai Y, Ono J, Kawaguchi Y, Izuhara K, Kuwana M, Aihara M : An increased circulating level of periostin in patients with systemic sclerosis: associations with functional impairment in various affected organs. 2016 ACR/ARHP Annual Meeting, Washington DC, 2016,11,15.
8. Hakuta A, Yamaguchi Y, Okawa T, Sakai Y, Yamamoto S, Aihara M : Collagen tripeptide may modulate inflammations of atopic dermatitis. 41st JSID, Sendai, 2016,12,10.

〔図書〕(計 2 件)

1. アトピー性皮膚炎診療ガイドライン作成委員会(加藤則人, 相原道子, 他 9 名)：診療ガイドライン 24.アトピー性皮膚炎診療ガイドライン 2016 版. 今日の治療指針 私はこう治療している TODAY'S THERAPY 2017(総編集 福井次矢, 高木 誠, 小室一成), 59:1928-1932, 2017.
2. 相原道子：5 アレルギーマーチを断つ 2)アトピー性皮膚炎からのアレルギーマーチ進展予防 1.アレルギーマーチと皮膚バリア障害 2.スキンケアによるアレルギーマーチ進展予防 3.乳児アトピー性皮膚炎の治療によるアレルギーマーチ進展予防. アレルギーマーチを断つ～ガイドライン準拠による拡大予防～(荒川浩一編), 医薬ジャーナル社(大阪), 160-165, 2016.

〔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：

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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山口 由衣

ローマ字氏名：(YAMAGUCHI, yukie)

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：60585264

(2)研究協力者

研究協力者氏名：白田 阿美子

ローマ字氏名：(HAKUTA, amiko)

研究協力者氏名：大川 智子

ローマ字氏名：(OKAWA, tomoko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。