

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19702

研究課題名(和文) カテプシンCに焦点をあてた抗悪性腫瘍剤による手足症候群の病態解明

研究課題名(英文) Research on the pathogenesis of hand-foot syndrome focusing on cathepsin C

研究代表者

滝吉 典子 (TAKIYOSHI, Noriko)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30568895

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)：ソラフェニブは表皮の過角化を主症状とする手足症候群を引き起こす抗悪性腫瘍のひとつである。我々の研究では、ソラフェニブをHaCaT(不死化表皮角化細胞株)の培養液中に添加すると、カテプシンC(CTSC)の発現量が低下することがわかった。さらに、ソラフェニブをCTSCノックアウトマウス群と野生型マウス群に各々投与すると、CTSCノックアウトマウスの足底の表皮が、野生型マウスの群に比し著明な過角化がみられることを確認した。我々はIL-4, IL-13刺激により表皮角化細胞におけるCTSC発現が上昇することを確認しており、手足症候群の治療に結び付くと考えている。

研究成果の概要(英文)：Sorafenib is an anticancer agent which lead to hand-foot syndrome characterized by hyperkeratosis. We speculated that cathepsin C (CTSC) is associated with the pathogenesis of hand-foot syndrome. We confirmed CTSC expression in HaCaT (immortal keratinocyte cell line) cells decreased after adding Sorafenib to culture medium for HaCaT. Furthermore, we administered Sorafenib CTSC knock out mice and wild type mice each, found that significant hyperkeratosis on soles was seen in CTSC knock out mice compared with wild. We also researched that IL-4 and IL-13 stimulation increased CTSC expression in keratinocyte. The results will help treatment for hand-foot syndrome.

研究分野：皮膚科学

キーワード：手足症候群 カテプシンC 掌蹠角化 パピヨン・ルフェーブル症候群

1. 研究開始当初の背景

手足症候群は抗悪性腫瘍剤による皮膚障害の一症状で、主に手や足に生じる皮膚症状を総じて呼称されている。軽度の刺激感や発赤のみでとどまるグレード1から、高度な皮膚の角化や水疱形成、潰瘍形成などを引き起こし、日常生活に支障をきたすようなグレード3の重症度に至る症例もある。グレード3に至る場合は、治療中断の適応になる。これら手足症候群が発症する機序については、未だ明らかになっていない。手足症候群にみられる掌蹠の紅斑や角化が、特に加重部位などの被刺激部に症状が強く、遺伝性掌蹠角化症であるパピヨン・ルフェーブル症候群 (PLS) の臨床に類似している。PLS はジペプチルペプチダーゼ I (DPPI) としても知られる酵素カテプシン C (CTSC) をコードする CTSC 遺伝子変異によって発症する。CTSC はシステインプロテアーゼであり、好中球エラスターゼなどのセリンプロテアーゼを活性化し、骨髄・リンパ球系細胞の炎症・免疫反応に参与する。しかし、表皮角化細胞における CTSC の役割については未だ明らかになっておらず、CTSC が PLS における表皮の肥厚及び過角化とどのように関与しているかは明らかになっていない。

2. 研究の目的

手足症候群における掌蹠の炎症や過角化のメカニズムが、酵素カテプシン C とどのように関連しているかを明らかにする。

3. 研究の方法

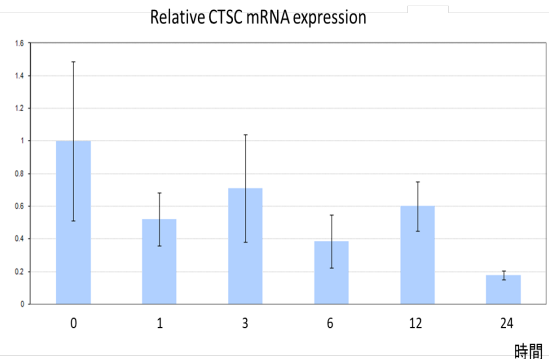
- 1) ソラフェニブは手足症候群を引き起こす抗悪性腫瘍薬である。ソラフェニブを HaCaT (不死化表皮角化細胞株) の培養液中に添加、カテプシン C の発現量の変化確認。
- 2) マウスにソラフェニブを投与し、カテプシン C 発現を免疫組織化学的検索法にて解析。

- 3) カテプシン C ノックアウトマウスにソラフェニブを投与し、角化亢進の解析。
- 4) カテプシン C の発現を上昇させるサイトカイン検出。

4. 研究成果

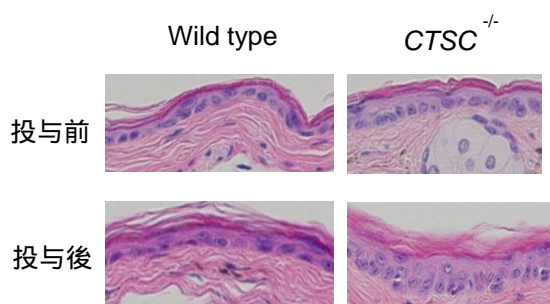
- 1) HaCaT の培地にソラフェニブ 3 $\mu\text{mol/L}$ を添加し、HaCaT における CTSC mRNA の発現量をリアルタイム RT-PCR で検討。ソラフェニブ添加後、CTSC の mRNA 発現が低下していた (図 1)。この結果により、ソラフェニブ投与により生じる手足症候群の病態に、CTSC が関与している可能性が示唆された。

図 1:



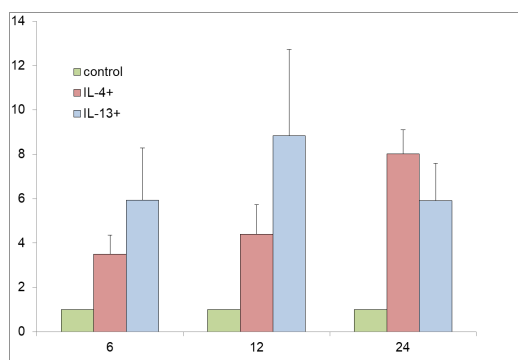
- 2) 野生型マウスにソラフェニブを投与。投与後 48 時間、72 時間後の足底の皮膚を採取し、抗 CTSC 抗体を用いて免疫組織化学的検索法を行った。ソラフェニブ投与前に確認できた表皮における CTSC 発現が、顕著に低下していた。
- 3) 野生型マウスと CTSC ノックアウトマウス各々にソラフェニブを投与した。野生型マウスの足底の表皮の角化傾向がみられたが、CTSC ノックアウトマウスでは野生型に比しより表皮の過角化が顕著にみられ、かつ表皮の肥厚がみられた (図 2)。

図 2: マウス足底の組織所見 (HE 染色)



4) 表皮に作用する各種サイトカインを HaCaT の培地中に添加し、HaCaT における CTSC 発現量の変化を確認した。IL-4 と IL-13 が CTSC 発現を上昇させることがわかった (図 3)。

図 3: relative CTSC mRNA expression



ソラフェニブ投与下で IL-4 及び IL-13 を投与した際に、CTSC の発現が上昇するかを現在検討中である。これらのサイトカインで CTSC 発現を上昇させることができれば、手足症候群の治療に結び付くと考える。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Matsui A, Kaneko T, Takiyoshi N, Rokunohe D, Nakano H, Sawamura D. Juvenile temporal arteritis with eosinophilia associated with systemic sclerosis. J Dermatol. 査読有, 2017;44(3):e50-e51. Doi:10.1111/1346-8138.13508.

Kaneko T, Rokunohe D, Takiyoshi N, Minakawa S, Nakano H, Sawamura D. Usefulness of ultrasonography in the diagnosis of ischaemic fasciitis. Clin Exp Dermatol. 査読有, 2016;41(5):502-505. Doi:10.1111/ced.12834.

Akasaka E, Hagiwara C, Takiyoshi N, Aizu T, Nakano H, Sawamura D, Ota T: Elevated levels of circulating immunoglobulin E autoantibodies against BP180 and BP230 in an intractable case of bullous pemphigoid. J Dermatol Sci. 査読有, 2016;84(1):110-113. Doi:10.1016/j.jdermsci.2016.07.011.

滝吉典子: Papillon-Lefevre症候群. 小児科診療, 2016;79:387

赤坂英二郎、滝吉典子、中野 創、澤村大輔: 優性栄養障害型表皮水疱症(痒疹型) VS 結節性痒疹. Visual Dermatol, 2016; 15(7): 715-717.

[学会発表](計 5 件)

滝吉典子、金子高英、中野 創、澤村大輔: 当科における過去 12 年の無症候性多発性基底細胞癌の統計. 第 69 回日本皮膚科学会西部支部学術大会, 2017 年

滝吉典子、金子高英、中野 創、澤村大輔: Multiple miliary osteoma of the face. 日本皮膚科学会東北六県合同地方会第 378 回例会, 2017 年

滝吉典子、金子高英、高橋実か、原 憲司、福井智久、是川あゆ美、赤坂英二郎、中野 創、澤村大輔: BRAF/MEK 阻害薬が奏功した進行性悪性黒色腫. 日本皮膚科学会青森地方会第 376 回例会, 2016 年

滝吉典子、赤坂英二郎、金子高英、中野 創、澤村大輔、野村和夫、平山隆士: LIPH

遺伝子変異を同定した先天性縮毛症/乏毛症の2例. 日本皮膚科学会青森地方会第375回例会、2016年

滝吉典子、会津隆幸、萩原千尋、金子高英、中野 創、澤村大輔：Miescher 母斑上に生じた lentigo maligna melanoma. 日本皮膚科学会東北六県合同地方会第374回例会、2016年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

滝吉典子 (TAKIYOSHI, Noriko)

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30568895