

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16333

研究課題名(和文) 抗線維化作用を有する新規化合物を用いた強皮症の治療開発

研究課題名(英文) Establishment of the novel treatment strategy for systemic sclerosis using anti-fibrotic compound.

研究代表者

小泉 遼 (Koizumi, Haruka)

福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員

研究者番号：10792088

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)：独自のスクリーニング法により同定した分子化合物HPH-15が、全身性強皮症の新規治療薬への応用の可能性について、2種類の強皮症モデルマウス(皮膚硬化型慢性GVHDモデルとMHC不一致マウス)を用いて検証した。HPH-15の経口投与は、皮膚硬化型慢性GVHDモデルの皮膚線維化や、MHC不一致マウスの骨髄移植で誘発した慢性GVHDの皮膚や肺の線維化を軽減させた。病変部に浸潤するリンパ球数やM2マクロファージ数、筋線維芽細胞のマーカー alpha-SMAの発現細胞数は著明に減少していた。線維化に関わるコラーゲン産生能や炎症性サイトカイン/ケモカインの発現量も減少していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

強皮症の新規治療薬の候補として、他の膠原病などで既に使用されている抗IL-6R抗体や抗CD20抗体などの臨床試験が本症でも行われている。これらは高価なバイオロジクスの注射製剤であり、経口可能な化合物の治療薬が期待されている。HPH-15は実用化された場合に抗体製剤に比べて安価で簡便に使用できる。HPH-15の治療効果がマウスで認められれば、我々の抗線維化薬のスクリーニング法の有用性を実証することができるのみならず、本化合物が線維化や血管障害をきたす様々な疾患の治療薬として拡大する可能性を有している点でも大きな医学貢献に結びつくことが予想される。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the therapeutic efficacy of the novel compound HPH-15 in two distinct mice model for systemic sclerosis. Oral application of HPH-15 ameliorates the skin and lung sclerosis in modified GvHD-induced and MHC-mismatched models. In both mice, locally infiltrating lymphocytes and M2-macrophages, as well as alphaSMA-positive myofibroblasts, were decreased in number, together with the reduced expression levels of collagens and inflammatory cytokines/chemokines. These findings suggest the possible antifibrotic effects of HPH-15 in vivo, which can be a potential candidate of the future treatment option for human systemic sclerosis.

研究分野：膠原病

キーワード：全身性強皮症 分子標的治療薬 内服治療 抗線維化 線維芽細胞 皮膚 肺 腎臓

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

全身性強皮症 (以下、強皮症) の病態は明らかでないが、局所に浸潤するマクロファージなどが産生するサイトカインが、線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化やその後の膠原線維の産生を促進して線維化が生じると考えられている。また、血管平滑筋細胞の増殖や血管の破壊・減少による顕著な血管障害が認められる。強皮症患者では、線維化や血管障害によって QOL が大きく低下したり、致死的臓器病変によって予後不良な症例が少なくない。このため、皮膚硬化や間質性肺炎などの線維化、指の潰瘍・壊疽、肺動脈性肺高血圧症などの血管病変に対して、一日も早い新規治療の開発が望まれている。

強皮症の線維化形成に中心的な役割を果たしていると考えられているのは TGF- β である。TGF- β は、線維芽細胞の TGF- β 受容体に結合すると、Smads2/3 などのリン酸化を介して、コラーゲンなどの細胞外基質因子の産生を誘導する。

このような局所の線維芽細胞による線維化以外にも、上皮間葉転換、内皮間葉転換などによる線維化機序を示唆する報告もあるが、これまであまり支持されてこなかった。その理由として、組織で完全な形質転換が確認できないという点があった。しかし、最近の研究では、上皮細胞がコラーゲン産生性線維芽細胞に転換しなくても、段階的に転換して上皮と間葉系細胞の性質の両方を様々な程度に併せ持つハイブリッドの上皮間葉転換細胞が存在することがわかってきた。そして、これらの細胞はサイトカインなどを産生することによって、炎症細胞の局所への浸潤や線維芽細胞からのコラーゲン産生を促進して腎臓の線維化に作用する可能性が考えられている (Angela Nieto M, Cell 2016, Lovisa S, Nat Med 2015)。しかし、上皮間葉転換や内皮間葉転換を標的とした線維化治療薬は開発されていない。

2. 研究の目的

上述のごとく、我々は上皮間葉転換を抑制する薬剤が、強皮症にみられる線維化や血管障害を抑制できるのではないかと考えて研究を進めてきた。このため、細胞の間葉化レベルを光学的定量化する『ハイスループット・スクリーン系』を構築し、1200 種類以上の薬剤の中から上皮細胞の間葉系分化を抑制できるいくつかの薬剤を見出した。その中で、まず最も有力な候補となり得る化合物 HPH-15 の有効性について検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

[初年度] TGF- β で刺激したヒト皮膚線維芽細胞の増殖・遊走・分化・活性化、線維芽細胞からのコラーゲンやファイブロネクチンの産生、線維芽細胞での TGF- β ・CTGF の発現や Smads やそれ以外のシグナル分子のリン酸化などへの HPH-15 の抑制作用を検討する。マウスにプレオマイシンを連日皮下注射すると、皮膚の線維化が誘導される。このモデルに HPH-15 の経口投与と試験を行い、その効果や副作用を確認し、作用機序を詳細に解析する。HPH-15 の投与により皮膚硬化が抑制され、その機序としては TGF- β による局所の線維芽細胞からのコラーゲン産生や上皮間葉転換の抑制が予想される。また、我々は本薬剤が局所のマクロファージなどの TGF- β /Smads

シグナルも抑制して炎症や線維化を制御する可能性も考えており、その点についても深く検討する。

[次年度] MHC 不一致マウスの骨髄移植により慢性 GVHD を生じさせ、皮膚の線維化を誘導する。このモデルにおいても、プレオマイシンのモデルと同様に、HPH-15 の経口投与試験を行い、薬剤の有用性と作用機序を解析する。HPH-15 の投与により皮膚硬化が抑制され、機序としては TGF- β による局所の線維芽細胞からのコラーゲン産生、上皮間葉転換、マクロファージの分化や活性化への作用が予想される。

[最終年度] 培養ヒト血管内皮細胞に TGF- β を添加して内皮間葉転換を誘導する際に LG283 を添加し、血管内皮マーカー、間葉系マーカー、内皮間葉転換に関与する転写因子の発現を確認する。上記の 2 つのマウスモデルにおいて、組織透明化処理を行って血管を観察し、血管障害に対する HPH-15 の効果を検証する。HPH-15 の投与によって内皮間葉転換や局所のマクロファージの活性化が抑制され、皮膚の血管障害が抑制されることが予想される。

以上の得られる成果や知見を総合すると、HPH-15 は TGF- β による上皮間葉転換を抑制する薬剤としてスクリーニングされたが、TGF- β のシグナル制御などにより局所の線維芽細胞からのコラーゲン産生、内皮間葉転換などを抑制し、強皮症のモデルマウスの皮膚の線維化や血管障害を抑制することが予測される。また、安全試験もさらに追加することにより、臨床試験への発展につなげたい。

4 . 研究成果

独自のスクリーニング法により同定した分子化合物 HPH-15 が、全身性强皮症の新規治療薬への応用の可能性について、2 種類の強皮症モデルマウス（皮膚硬化型慢性 GVHD モデルと MHC 不一致マウス）を用いて検証した。HPH-15 の経口投与は、皮膚硬化型慢性 GVHD モデルの皮膚線維化、MHC 不一致マウスの骨髄移植で誘発した慢性 GVHD の皮膚や肺の線維化を軽減させた。病変部に浸潤するリンパ球数や M2 マクロファージ数、筋線維芽細胞のマーカー α -SMA の発現細胞数はコントロールに比べて著明に減少していた。また、線維化に関わるコラーゲン産生能や炎症性サイトカイン/ケモカインの発現量も減少していた。

これらの結果から、HPH-15 は強皮症モデルマウスの皮膚をはじめとする諸臓器の線維化の抑制に有効であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koizumi H, Tokuriki A, Oyama N, Ido H, Sugiura K, Akiyama M, Hasegawa M.	4. 巻 44
2. 論文標題 Certolizumab pegol, a pegylated anti-TNF- antagonist, caused de novo-onset palmoplantar pustulosis followed by generalized pustular psoriasis in a patient with rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 723-724
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1111/1346-8138.13530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koizumi H, Oyama N, Hayakawa Y, Hasegawa M.	4. 巻 9
2. 論文標題 A Case of Subcutaneous Sarcoidosis Occurring along the Superficial Veins of the Forearms: A Distinctive Cutaneous Manifestation Masquerading Venous Tropic Action in the Underlying Systemic Disease?	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Case Rep Dermatol	6. 最初と最後の頁 108-113
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1159/000469656	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okiyama N, Asano Y, Hamaguchi Y, Jinnin M, Motegi SI, Koizumi H, Hasegawa M, Ishikawa O, Sato S, Takehara K, Yamamoto T, Fujimoto M, Ihn H.	4. 巻 45
2. 論文標題 Impact of a new simplified disability scoring system for adult patients with localized scleroderma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 431-435
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1111/1346-8138.14214	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Enomoto S, Shigemi H, Kitazaki Y, Ikawa M, Yamamura O, Hamano T, Tai K, Iwasaki H, Koizumi H, Hasegawa M, Takeda K, Nakamoto Y.	4. 巻 399
2. 論文標題 Cladophialophora bantiana infection mimicking neuromyelitis optica.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurol Sci	6. 最初と最後の頁 169-171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1016/j.jns.2018.12.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Y, Oyama N, Koizumi H, Chino T, Hasegawa M.	4. 巻 46
2. 論文標題 Successful treatment of recalcitrant subcorneal pustular dermatosis with oral nicotinamide.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 e438-e440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1111/1346-8138.14980	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小泉 遥、Vu Huy Luong、知野剛直、尾山徳孝、長谷川 稔、丹羽眞一郎、大塚雅巳、尹 浩信
2. 発表標題 強皮症マウスモデルを用いた既存化合物LKC008の抗線維化作用の検討
3. 学会等名 厚生労働省「強皮症・皮膚線維化疾患の診断基準・重症度分類・診療ガイドラインに関する研究」研究班2017年度会議・第21回強皮症研究会議
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

特記なし。

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