

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：86301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08806

研究課題名(和文)重症薬疹におけるCD16陽性単球の役割—表皮障害のinitiatorとして

研究課題名(英文)A role of CD16 positive monocytes in epidermal damage of severe drug rash

研究代表者

藤山 幹子 (Tohyama, Mikiko)

独立行政法人国立病院機構四国がんセンター(臨床研究センター)・その他部局等・部長

研究者番号：60263935

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：SJS/TENや多形紅斑と、免疫チェックポイント使用下でみられるSJS/TEN様の表皮障害を示す紅斑とを比較検討した。免疫チェックポイント阻害薬投与時に生じるSJS/TEN様の紅斑に浸潤しているCD16陽性単球は、SJS/TENではなく、多形紅斑に浸潤するCD16陽性単球に似ると考えられた。免疫チェックポイント阻害薬投与時に生じるSJS/TEN様の紅斑は、表皮の分子の発現パターンがSJS/TENとは異なっていた。免疫チェックポイント阻害薬使用時に生じる表皮障害は、SJS/TENとは異なるメカニズムで発生していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、Stevens-Johnson症候群(SJS)・中毒性表皮壊死症(TEN)と、免疫チェックポイント阻害薬使用時に出現する表皮障害を伴う紅斑では、表皮障害の発生メカニズムが異なることを明らかにした。これらの成果は、SJS/TENの病態形成において重要度の高い要因を検討するうえで、また、免疫チェックポイント阻害薬投与中の表皮障害を伴う皮膚障害の治療法を検討するうえで、学術的、社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Stevens-Johnson syndrome (SJS)/ toxic epidermal necrolysis (TEN)-like epidermal disorders that occur during treatment with immune checkpoints were compared with those of SJS/TEN and erythema multiforme (EM) induced as drug adverse reactions by immunohistochemical analysis. Characteristic of CD16-positive monocytes infiltrating SJS/TEN-like erythema that occur during administration of immune checkpoint inhibitors were considered to resemble that of CD16-positive monocytes infiltrating in EM. In the SJS / TEN-like erythema during treatment with immune checkpoint inhibitor, the epidermis showed a different pattern of molecular expression from SJS/TEN. These findings suggest that epidermal damage caused by the use of immune checkpoint inhibitors may occur by a different type of mechanism from that of SJS/TEN.

研究分野：皮膚科学

キーワード：重症皮膚障害 免疫チェックポイント阻害薬 単球 TNF-

1. 研究開始当初の背景

薬剤性の皮膚障害である薬疹は、医療を行う上で発生を避けて通ることはできない副作用の一つである。特にスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)と中毒性表皮壊死症(TEN)は、皮膚と粘膜の重篤で広範な表皮(上皮)障害を生じ、生命予後にも影響を与えて大きな問題となる。しかし、このような激しい表皮細胞死がどのように生じているか、諸説はあるもののまだ明確ではない。

本研究者は、SJS/TENの病変皮膚には表皮障害の程度と相関してCD16陽性単球が多数浸潤すること、その浸潤は表皮障害を生じる前のごく早期からみられることを報告し、CD16陽性単球がSJS/TENのinitiatorである可能性を報告した。従来、SJS/TENの病態におけるTNF α の重要性は知られており、CD16陽性単球はその供給源と考えられる。また、病変部皮膚に浸潤するCD16陽性単球は、CD137Lを発現している。細胞障害性リンパ球であるCD8陽性T細胞は、CD137-CD137Lのinteractionにより、増殖し細胞障害性が増強することが知られている。CD16陽性単球は、SJS/TENの表皮障害に重要な役割を担っていると考えられる。

一方、近年、がん治療の領域において、免疫に直接的に作用する免疫チェックポイント阻害薬が頻用されるようになった。ニボルマブ、ペムブロリズマブはPD-1/PD-L1の結合を阻害することで、がん抗原に対する特異的なエフェクターT細胞の活性化をきたし、また、抗CCR4抗体は制御性T細胞を減少させ、がんに対する免疫反応を増強させる。これらの薬剤はがん免疫のみならず、既存の炎症性皮膚疾患や、他の薬剤により引き起こされた薬疹などの、皮膚での免疫反応をも増強する。実際にこれら免疫に作用する薬剤の投与下で生じた薬疹は、皮疹のactivityが強いことが多いが、しかしながらその中でSJS/TENが占める割合は増加しているとはいえない。また、SJS/TENと診断された症例は、発熱が軽度で全身状態がよく、病変部の皮膚病理組織で全層の表皮障害になることが少なく、これまでのSJS/TENの概念とはやや異なる比較的軽症の経過をたどる。通常SJS/TENや多形紅斑と、免疫チェックポイント使用下で発症したSJS/TENや多形紅斑とを比較検討することで、SJS/TENの表皮障害のメカニズムを明らかにできる可能性がある。

2. 研究の目的

SJS/TENでは、高度の表皮障害を認める。急激に広範囲に生じる表皮細胞のアポトーシスと壊死を細胞障害性リンパ球の働きのみで説明することはできず、本研究者は、表皮真皮接合部に多数浸潤するCD16陽性単球が重要な役割を果たしている可能性を明らかにしてきた。SJS/TENの表皮障害の病態を完全に反映した動物モデルはなく、表皮障害に関わる因子の重要性の評価は、多形紅斑との比較により行われてきた。ところが近年、がん治療において免疫チェックポイント阻害薬の使用下で、典型とはいえないSJS/TEN、SJS/TENとまではいえない水疱をつくる紅斑を認めることがある。これら症例を蓄積して免疫組織学的に検討することで、表皮障害に関わるとされる因子の重要性を新たに評価し、CD16陽性単球の重要性を明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

1. 皮膚病理組織の免疫染色による検討：一般的なSJS/TENと多形紅斑、免疫チェックポイント阻害薬の使用下で発症したSJS/TEN、多形紅斑の比較解析

1) 浸潤するリンパ球 (CD4, CD8, CD45RO, FOXP-3)、単球 (CD16) の数の比較

2) TNF α 、IFN γ により発現が誘導される蛋白の検討：組織に浸潤する炎症細胞のTNF α とIFN γ の産生能を、病理組織切片の免疫染色により評価することは難しい。そこで、これらサイトカインで特異的に発現が誘導される蛋白に注目して検討する。本研究者は、三次元培養皮膚を用いた検討により、表皮角化細胞のICAM-1、HLA-DRの発現パターンが、それぞれのサイトカインの濃度と比率によって異なることを明らかにしている。そこで、生検皮膚の病理組織において、これら蛋白に加え、同様に発現が誘導されるPD-L1、endothelin-1、IL-33等について免疫染色を行い、TNF α とIFN γ の関与を評価する。

3) 小胞体ストレス経路の関与の検討：申請者は、培養表皮角化細胞がTNF α とIFN γ により壊死に陥るとき、小胞体ストレスの経路を介することを明らかとしている。そこで、小胞体ストレスの指標となるリン酸化eIF2 α の発現を凍結皮膚切片で染色する。

本研究の1)2)の検討により、表皮障害に関わると考えられる因子の重要性をランク付けすることができる。また、培養系で想定される表皮細胞壊死のメカニズムが、実施のSJS/TENでもみられるかどうかを3)により明らかにすることができる。

2. SJS/TENの病変モデルの作成：三次元培養皮膚を用いた検討

1)三次元培養皮膚をサイトカインで刺激し、SJS/TENの皮膚病理組織で観察されるパターンと同様な蛋白発現を生じるかどうかを検討する。HLA-DR、ICAM-1についてはこれまで検討を行なっているが、さらに、PD-L1、endothelin-1、IL-33等についても検討する。解析は免疫染色のほか、三次元培養皮膚から剥離した表皮を用い、real-time PCR法やWestern blot法でも行う。

2) 上記2の検討結果で、培養表皮角化細胞でIL-33を放出させる刺激が特定されれば、同様に三次元培養皮膚で検討し、培養液中へのIL-33の放出をELISA法で確認する。さらに、健康成人の末梢血より分離したCD16陽性単球を用いて遊走実験を行う。

4. 研究成果

CD16陽性単球の産生するTNF α と、浸潤リンパ球の産生するIFN γ が、SJS/TENの表皮障害に重要であるという仮説を検証するため、一般的な多形紅斑(EM)とSJS/TEN、ICI投与下でみられた表皮下水疱を形成するinterface dermatitisの皮膚病理組織を用い、免疫染色による比較解析を行った。その結果、TNF α 、IFN γ で誘導されるICAM-1、HLA-DR、PD-L1、IL-33等の分子の発現は、EMとSJS/TENとの間で異なっていることを見出した。この相違は、SJS/TENではTNF α とIFN- γ が、EMではIFN- γ が主に表皮に作用することに起因すると考えられた。一方、ICI投与下でみられた表皮下水疱を形成するinterface dermatitisでは、これら分子の発現は、EMともSJS/TENとも異なっていた。三次元培養皮膚については検討中である。

CD16陽性単球の表面マーカーの発現を比較検討した。SJS/TENでは、CD16陽性単球が表皮真皮接合部に数多く浸潤し、CD80、CD86、CD137Lを強く発現していた。多

形紅斑において、基底細胞の空胞変性が顕著なとき、SJS/TEN 同様に表皮真皮接合部に CD16 陽性単球が浸潤するが、これらの細胞は CD80、CD86 の発現はほとんどみられず、CD137L の発現が強い。ICI の関与する interface dermatitis でみられる表皮真皮接合部の CD16 陽性単球は、EM と類似の発現パターンを示した。以上の結果は、ICI 投与下でみられる水疱を形成する紅斑は、多形紅斑と同じスペクトラムに位置付けられるものの、SJS/TEN とは異なることを示唆している。

以上をまとめると、免疫チェックポイント阻害薬投与時に生じる SJS/TEN 様の紅斑に浸潤している CD16 陽性単球は、SJS/TEN ではなく、多形紅斑に浸潤する CD16 陽性単球にと同様の特性を示すと考えられた。一方、免疫チェックポイント阻害薬投与時に生じる SJS/TEN 様の紅斑における表皮の分子の発現パターンは、SJS/TEN とも EM とも異なっていた。免疫チェックポイント阻害薬使用時に生じる表皮障害は、SJS/TEN とは異なるメカニズムで発生していると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 M Tohyama, A Asagi, A Nakasya, S Iuchi, K Hashine	4. 巻 48
2. 論文標題 Characteristic distribution of maculopapular rash caused by gemcitabine based chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 215-218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15654	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 M Tohyama, A Matsumoto, T Tsuda, X Dai, K Shiraiishi, K Sayama	4. 巻 101
2. 論文標題 Suppression of IL-17A-induced CCL20 production by cytokine inducible SH2-containing protein 1 in epidermal keratinocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci	6. 最初と最後の頁 202-209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2021.01.005	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 Tohyama M, Hamada M, Harada D, Kozuki T, Nogami N, Monden N, Kajiwara T, Nishina T.	4. 巻 47
2. 論文標題 Clinical features and treatment of epidermal growth factor inhibitor-related late-phase papulopustular rash.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 121-127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15170.	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 M Tohyama, C Sakaguchi, T Nishina, I Hyodo	4. 巻 48
2. 論文標題 Possible involvement of zinc deficiency in epidermal growth factor receptor inhibitor induced xerotic dermatitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 1579-1583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16049.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分 担 者	難波 千佳 (Namba Chika) (50736139)	愛媛大学・医学部附属病院・医員 (16301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------