

令和 3 年 5 月 9 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17788

研究課題名(和文) 掌蹠膿疱症の病態におけるマイクロバイオームの役割とアプレミラストの作用機序の解析

研究課題名(英文) Analysis of association between microbiome and palmoplantar pustulosis and action mechanism of apremilast on palmoplantar pustulosis

研究代表者

高間 寛之 (Hiroyuki, Takama)

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号：80780965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：掌蹠膿疱症患者におけるアプレミラスト内服療法の効果を、臨床症例の集積データ解析を行う事により、明確にした。PPPASI(平均±SD：治療前、13.4±9.5 vs. 治療後、5.1±5.6; P = 0.013)および直径> 1 mmの膿疱の数(3.9±3.9 vs. 1.3±1.9; P = 0.029)は2週間で大幅な改善が見られた。有害事象として、60.0%の患者で下痢が見られた。このデータはいわゆるPilot studyであり、今後のデータの集積が待たれる。以上をInternational journal of dermatologyに投稿、掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アプレミラスト内服療法は、掌蹠膿疱症患者の新たな治療方法となる可能性がある。我々の研究は、アプレミラストが、明らかな膿疱や鎖骨胸肋関節痛を有する日本人のPPP患者の皮膚症状および関節痛を効果的に治療できることを示した。RCTではない事とサンプルサイズが小さいため、PPPの治療に対するアプレミラストの有効性を検証するために、より多くの患者を対象としたプラセボ対照臨床試験が必要である。

研究成果の概要(英文)：We analyzed clinical data of 10 patients of palmoplantar pustulosis. This study clarified that apremilast immediately relieves PPP patient's skin and joint manifestations. Because this study is pilots study and included just a small of patients, randomized controlled trial with larger number of patients is necessary.

研究分野：皮膚科

キーワード：掌蹠膿疱症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

掌蹠膿疱症は、手掌や足底の汗管に膿疱が発生する炎症性疾患である。欧米では乾癬の亜型として分類されており、本邦だけでも約13万人の患者がいるとされている。手掌の皮疹は外観上、社会生活上の障害となり、足蹠の皮疹は歩行時の疼痛による機能的な障害となるため、掌蹠膿疱症は患者のQOLを強く低下させる。また、およそ35%に骨関節症を合併し、介護の必要性などの問題を生じる等、その社会的影響は大きい。直近の後ろ向き観察試験で、我々は初めて、尋常性乾癬の治療薬であるアプレミラストが、掌蹠膿疱症の皮疹や関節炎に対し有効性を示すことを明らかにしたが、その生体内での作用機序を解明することで、掌蹠膿疱症の病態解明につながると考えた。掌蹠膿疱症の病態として特徴的な点として、病巣感染と喫煙の関わり、全身性の炎症反応、掌蹠の汗管内のdysbiosis及び膿疱形成の三点が挙げられる。しかしながら、掌蹠膿疱症の病態においてこれら3つの要素がどのように関係しているか、未だに明らかにできていない。そこで我々は、掌蹠膿疱症の病態に関し以下のような病態仮説を立てた。これは上記3つの病態を一連の流れとして、合理的に説明するものである。口腔・上気道のdysbiosisと喫煙などを誘因として全身の好中球活性化、サイトカイン産生亢進が起こり汗管の異常な細菌叢に対して好中球が過敏反応を起こす。全体の流れとして、口腔と汗管常在細菌の両者にinnate immunityが反応し、cross reactionに類似した病態を引き起こす。

### 2. 研究の目的

掌蹠膿疱症は、手掌や足底の汗管から膿疱が発生する炎症性疾患で、本邦だけでも約13万人の患者がいると推定されている。また掌蹠膿疱症は機能面、社会面で患者のQOLを強く低下させ、関節炎を合併するなど、社会的影響が大きい疾患である。近年、無菌性とされていた掌蹠膿疱症の膿疱内に細菌フローラが存在することが証明されたが、その病的意義は明らかにされていない。直近の観察研究で、我々は初めて、アプレミラストが掌蹠膿疱症の膿疱性病変に対し迅速かつ特異的に効果を示す事を明らかにした。掌蹠膿疱症の病変組織において最も特徴的なのは汗管内の好中球性膿疱であり、我々はアプレミラストの主な作用点が好中球の活性化、遊走に関わっていると推測した。本研究は掌蹠膿疱症患者の口腔・汗管内細菌叢と全身の炎症との関連性を解析するとともに、アプレミラストがその病態にどのように作用するかを主に好中球を中心としたinnate immunityの視点から明らかにする事を目的としている。

掌蹠膿疱症における口腔内及び汗管内細菌叢の健常者との違いを明らかにする。掌蹠膿疱症の汗管内膿疱に異常細菌叢が存在することはすでに報告されているが、健常者には膿疱が存在しないため、健常との比較はされていない。膿疱発生の母地である健常者の汗と掌蹠膿疱症患者の汗を比較する事で、掌蹠膿疱症患者に特徴的な細菌叢を探る事ができる。

掌蹠膿疱症患者特有の口腔内・汗管内常在細菌が宿主免疫に及ぼす影響を解析する。実際にアトピー領域と副鼻腔炎領域において、近年、プロバイオティクスや常在菌の移植による治療が有効であったという報告が多数ある。掌蹠膿疱症においても汗管内や口腔内のdysbiosisを是正することにより非侵襲的に治療できる可能性があり、創薬に発展しうる。

アプレミラストの掌蹠膿疱症に対する作用点(特に好中球表面抗原やIL-8の変化)を検討する。我々はアプレミラストが掌蹠膿疱症の膿疱に迅速に効果を発揮する理由は、dysbiosisに対するinnate immunity, 特に好中球に強く作用している為であると考えた。これはアプレミラストが実際は乾癬よりも膿疱性/好中球性皮膚疾患により特異的に効果を発揮するという可能性があり、難治性疾患の新たな治療選択肢となりうる。

### 3. 研究の方法

当初以下のような研究計画を立てた。

掌蹠膿疱症患者の唾液、汗中の常在細菌叢を16SリボソームRNA解析し、健常者と比較する。特に*P. gingivalis*は歯周炎患者における血中IL-17増加に関わっており、*S. aureus*とともにその組成を健常者と詳しく比較する。解析には次世代シーケンサーを用いる。

掌蹠膿疱症患者に特徴的な唾液、汗中の常在細菌をマウスに投与し、その影響を解析する。掌蹠膿疱症患者の汗管内・口腔内細菌叢が生体内でどのように影響を与えるかを確認するため、の掌蹠膿疱症患者に特徴的な汗管内・口腔内常在細菌を複数ピックアップし、各々マウスの口腔粘膜、足底皮膚に連日投与する。組織を採取し、HE染色、ICAM-1など好中球接着に関連する分子の免疫染色等を行う。組織中の炎症マーカーをWestern blotting, real-time PCRを用いて解析する。またマウスの血清IL-8濃度をELISA法で測定するとともに、好中球をグラディエント法で分離し、好中球の活動性に関わる表面抗原(CD11b, CD66b and CD63など)の発現をflow cytometryで確認する。

掌蹠膿疱症患者におけるアプレミラストの影響を解析する。アプレミラストを投与した掌蹠膿疱症患者において、投与前と投与後2週間で唾液・汗中マイクロバイオーム解析や患者血清中IL-17、患者の好中球の表面抗原を解析、比較する。

しかしながら、社会情勢の影響もあり、細胞実験および動物実験は研究計画通りに進まなかった。

そのため我々は当施設に受診した掌蹠膿疱症患者のうちアプレミラストにより治療を受けた患者のデータを集積し、解析した。客観的指標（PPPASI や膿疱数など）主観的指標（DLQI や VAS スコア）を利用し評価し、その効果を検証した。

#### 4 . 研究成果

PPPASI（平均±SD：治療前、 $13.4 \pm 9.5$  vs. 治療後、 $5.1 \pm 5.6$ ;  $P = 0.013$ ）および直径> 1 mm の膿疱の数（ $3.9 \pm 3.9$  vs.  $1.3 \pm 1.9$ ;  $P = 0.029$ ）は 2 週間で大幅な改善が見られた。さらに、DLQI（ $9.7 \pm 7.0$  vs.  $3.3 \pm 3.6$ ;  $P = 0.009$ ）および掌蹠のかゆみ（視覚的アナログ尺度 [VAS] スコア）（ $5.6 \pm 3.5$  vs.  $2.1 \pm 2.2$ ;  $P = 0.026$ ）は、2 週間で優位に改善した。一方、掌蹠痛（ $4.8 \pm 4.4$  対  $1.1 \pm 2.4$ ;  $P = 0.081$ ）および胸鎖関節痛（ $3.2 \pm 3.8$  対  $2.0 \pm 2.6$ ;  $P = 0.194$ ）の VAS スコアは有意に改善しなかった。有害事象として、60.0%の患者で下痢が見られた。

我々の研究は、アプレミラストが、明らかな膿疱や鎖骨胸肋関節痛を有する日本人の PPP 患者の皮膚症状および関節痛を効果的に治療できることを示した。RCT ではない事とサンプルサイズが小さいため、PPP の治療に対するアプレミラストの有効性を検証するために、より多くの患者を対象としたプラセボ対照臨床試験が必要である。

上記を論文化し、英語論文（International journal of dermatology）に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takama H, Ando Y, Yanagishita T, Ohshima Y, Akiyama M, Watanabe D.	4. 巻 29
2. 論文標題 Successful treatment of pustulotic arthro-osteitis with apremilast: a case report with follow-up MRI.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European journal of dermatology	6. 最初と最後の頁 656-658
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1684/ejd.2019.3660.	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 Noriko Kato, Hiroyuki Takama, Yoriko Ando, Takeshi Yanagishita, Yuichiro Ohshima, Wataru Ohashi, Masashi Akiyama, Daisuke Watanabe	4. 巻 60
2. 論文標題 Immediate response to apremilast in patients with palmoplantar pustulosis: a retrospective pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Dermatol	6. 最初と最後の頁 570-578
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ijd.15382	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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------