

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17357

研究課題名(和文)分子標的治療薬による皮膚障害発症機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathogenic mechanism of acneiform skin eruptions caused by molecular targeted drugs

研究代表者

御守 里絵(Ommori, Rie)

奈良県立医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：20533722

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)：分子標的治療薬投与によりざ瘡様皮疹などの皮膚症状を高率に生じることが知られているが、薬疹発症のメカニズムについては未だ不明な点が多い。これまでにEGFR阻害薬が培養ケラチノサイトの抗菌ペプチド  $\alpha$ -defensinの産生を阻害することを明らかにした。本研究では、実際の患者において、EGFR阻害薬が皮膚自然免疫応答にどのような影響を及ぼしているのかを検討した。EGFR阻害薬によるざ瘡様皮疹は  $\alpha$ -defensinの低下に伴い発症することを見出した。皮膚常在菌の表皮ブドウ球菌はTLR2を介してTGF- $\beta$ を誘導し、EGFRを活性化することで  $\alpha$ -defensin-3を産生することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、EGFR阻害薬によるざ瘡様皮疹の発症には  $\alpha$ -defensinの低下が密接に関与している可能性が示唆された。平時ではブドウ球菌の感染はTGF- $\beta$ との相乗効果により  $\alpha$ -defensinの発現を誘導することで、自然免疫応答を維持しているが、EGFR阻害剤を投与された患者においては  $\alpha$ -defensin発現が著明に低下し、ざ瘡様皮疹が生じるのではないかと考えられた。

研究成果の概要(英文)：EGFR inhibitors (EGFRIs) are a well-established targeted therapy for several cancers, and these drugs frequently cause cutaneous adverse effects such as acneiform eruptions. However, the mechanism of the reactions remains unclear. In the present study, we investigated whether EGFRIs have an influence on innate immune response in patients' skin to reveal the pathological mechanism of cutaneous adverse reactions caused by EGFRIs. In this study, we found that human  $\alpha$ -defensin (hBD) was significantly decreased in patients with acneiform eruptions. *S. epidermidis* induced the expression of TGF- $\beta$  in a TLR2-dependent manner, and subsequently produced hBD3 through EGFR signaling. EGFR signaling is necessary for hBD3 production induced by *S. epidermidis*. Our results suggest that *S. epidermidis* induce the expression of hBD3 via EGFR by inducing TGF- $\beta$  under normal condition, but in patients treated with EGFRIs, hBD3 expression is significantly decreased, resulting in acneiform eruptions.

研究分野：皮膚科学

キーワード：human  $\alpha$ -defensin 抗菌ペプチド 自然免疫応答 分子標的治療薬 EGFR阻害薬 ざ瘡様皮疹 薬疹

## 1. 研究開始当初の背景

近年、種々の悪性腫瘍の治療に分子標的治療薬が広く用いられるようになり目覚ましい効果を発揮しているが、その一方で様々なタイプの特徴的な薬疹も増加してきている。これらの皮膚障害により患者の QOL が著しく低下するのみならず、投薬中断を余儀なくされる事例をしばしば経験する。そのため、いかに皮膚障害を軽減し、最大限に分子標的治療薬の効果を発揮させるかが大きな課題となっている。しかし、薬疹発症の詳細なメカニズムについては未だ不明な点が多く、効果的な治療法に乏しい状況である。EGFR 阻害薬は上皮系悪性腫瘍の治療に用いられる分子標的治療薬であるが、薬剤投与後に高率にざ瘡様皮疹を発症することが知られている。EGFR 阻害薬による皮膚症状は、ケラチノサイトの増殖抑制や炎症性サイトカインの惹起によって、皮膚バリア機能が障害を受けることで引き起こされると考えられている。一方で、EGFR 阻害薬によって生じたざ瘡様皮疹を調べると、その病巣部では細菌感染が認められ、黄色ブドウ球菌や表皮ブドウ球菌が高率に検出される。このことから、EGFR 阻害薬は単に皮膚のバリア機能に障害を与えるだけでなく、皮膚の自然免疫応答にも影響を及ぼすのではないかと考えられる。そこでわれわれは、培養表皮ケラチノサイトを用いて、EGFR 阻害薬が抗菌ペプチド - defensin 産生誘導に及ぼす影響について検討した。表皮ケラチノサイトはブドウ球菌への暴露により - defensin を産生するが、EGFR 阻害薬存在下ではこのブドウ球菌刺激由来の - defensin 産生が阻害されることが明らかになった(*J Dermatol Sci*, 2014, *Br J Dermatol*, 2018)。この結果は、EGFR 阻害薬による薬疹の発症には皮膚の自然免疫応答が密接に関与している可能性を示唆している。

## 2. 研究の目的

上記背景に基づき、実際に EGFR 阻害薬を投与されている患者について、EGFR 阻害薬が皮膚の自然免疫応答にどのような影響を及ぼすのかを検討し、薬疹発症機序の一端を明らかにするとともに、その治療法、予防法の開発を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) EGFR 阻害薬がヒト皮膚の自然免疫応答に及ぼす影響

EGFR 阻害薬投与と患者の頬部角質を薬剤投与前および投与後に採取し、角質検体中の - defensin 量を ELISA 法にて測定する。同時に患者の皮膚症状との相関を調べる。

さらに薬剤投与前後の - defensin 産生量の変化について、 - defensin のサブタイプ毎の相関を解析する。

### (2) EGFR 阻害薬が培養表皮ケラチノサイトの自然免疫応答に及ぼす影響

表皮ケラチノサイト培養系へ EGFR リガンド類(EGF, HB-EGF, TGF-) を添加し、ケラチノサイト培養液上清中の - defensin 量を ELISA 法にて測定する。さらに EGFR リガンドの中和抗体存在下で表皮ブドウ球菌培養液上清を添加し、 - defensin 産生に及ぼす影響を検討する。

表皮ブドウ球菌刺激によってケラチノサイト培養液上清中に遊離した EGFR リガンド類を ELISA 法にて定量する。また mRNA レベルでの発現誘導も real-time PCR 法にて解析する。

TGF- $\beta$  存在下で と同様の表皮ブドウ球菌による刺激実験を行い、ケラチノサイト培養液上清中の  $\alpha$ -defensin 量を ELISA 法にて測定する。さらに EGFR 阻害薬による  $\alpha$ -defensin 産生への影響も調べる。

siRNA により TLR2 および ADAM17 をノックダウンしたケラチノサイトを用いて、表皮ブドウ球菌による  $\alpha$ -defensin および TGF- $\beta$  の産生誘導に及ぼす影響について検討する。

#### 4. 研究成果

##### (1) EGFR 阻害薬がヒト皮膚の自然免疫応答に及ぼす影響

EGFR 阻害薬を実際に投与された患者の皮膚においても、in vitro の研究結果と同様に、薬剤投与後に  $\alpha$ -defensin-1 および-3 の産生レベルが有意に減少し、 $\alpha$ -defensin-2 の産生レベルについても、有意差は認められないものの、減少傾向を示した。これらの  $\alpha$ -defensin 産生の減少に伴い、ざ瘡様皮疹が出現する傾向がみられた。EGFR 阻害薬を投与後にざ瘡様皮疹を発症しなかった患者においては、 $\alpha$ -defensin 産生量の変化についての明らかな傾向は認められなかった。

薬剤投与前後の  $\alpha$ -defensin 産生量の変化について、サブタイプ毎の相関を解析したところ、 $\alpha$ -defensin-1 と  $\alpha$ -defensin-3、および、 $\alpha$ -defensin-2 と  $\alpha$ -defensin-3 の間で正の相関関係を示した。

これらの結果より、EGFR 阻害薬によるざ瘡様皮疹の発症に  $\alpha$ -defensin 産生の低下が関与していることが示唆された。

##### (2) EGFR 阻害薬が表皮ケラチノサイトの自然免疫応答に及ぼす影響

ケラチノサイト培養系に EGFR リガンド類 (EGF, HB-EGF, TGF- $\beta$ ) を添加すると、 $\alpha$ -defensin-3 の産生が誘導された。また、表皮ブドウ球菌刺激による  $\alpha$ -defensin-3 の産生は、EGF、HB-EGF および TGF- $\beta$  の中和抗体により阻害された。

ケラチノサイトの表皮ブドウ球菌による刺激によって、TGF- $\beta$  の誘導が認められた。一方で、EGF および HB-EGF の産生誘導には影響を及ぼさなかった。

TGF- $\beta$  存在下で表皮ブドウ球菌によるケラチノサイトの刺激を行うと、 $\alpha$ -defensin-3 の著名な産生亢進が認められ、EGFR 阻害薬存在下で完全に抑制された。

TLR2 および ADAM17 をノックダウンした培養ケラチノサイトにおいては、表皮ブドウ球菌刺激による TGF- $\beta$  の産生が有意に阻害された。また、 $\alpha$ -defensin-3 の産生誘導も有意に阻害された。

これらの結果より、表皮ブドウ球菌は TLR2 を介して TGF- $\beta$  を誘導し、EGFR を活性化することで  $\alpha$ -defensin-3 を産生することが明らかになった。この  $\alpha$ -defensin-3 の産生には、EGFR シグナルが必須であると同時に、その産生を増強させる作用があることも判明した。

今回の研究により、EGFR 刺激がブドウ球菌刺激に対する自然免疫応答に非常に重要な役割を果たしていることが明らかになった。平時ではブドウ球菌の感染は TGF- $\beta$  との相乗効果により  $\alpha$ -defensin の発現を誘導することで、自然免疫応答を維持しているが、EGFR 阻害剤を投与された患者においては  $\alpha$ -defensin 発現が著明に低下し、ざ瘡様皮疹が生じるのではないかと考えられた。

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 0件）

1. 著者名 Mitsui Yasuhiro, Shinkuma Satoru, Nakamura-Nishimura Yuki, Ommori Rie, Ogawa Kohei, Miyagawa Fumi, Mori Yasuko, Tohyama Mikiko, Asada Hideo	4. 巻 10
2. 論文標題 Serum Soluble OX40 as a Diagnostic and Prognostic Biomarker for Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome/Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice	6. 最初と最後の頁 558 ~ 565.e4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaip.2021.10.042	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 Ommori R., Nakamura Y., Miyagawa F., Shobatake C., Ogawa K., Koyama F., Sho M., Ota I., Kitahara T., Hontsu S., Muro S., Asada H.	4. 巻 45
2. 論文標題 Reduced induction of human defensins is involved in the pathological mechanism of cutaneous adverse effects caused by epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dermatology	6. 最初と最後の頁 1055 ~ 1058
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ced.14311	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7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Rie Ommori, Yuki Nishimura, Fumi Miyagawa, Chinatsu Shobatake, Kohei Ogawa, Satoru Shinkuma, Hideo Asada.
2. 発表標題 S. epidermidis enhance human $\alpha$ -defensin-3 production via EGFR by inducing TGF- $\beta$ .
3. 学会等名 47th Annual Meeting of JSID (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 御守里絵、西村友紀、宮川史、正島千夏、小川浩平、新熊悟、浅田秀夫
2. 発表標題 EGFR阻害薬によるブドウ球菌由来の $\alpha$ -defensin産生阻害とざ瘡様皮疹発症への影響
3. 学会等名 第52回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rie Ommori, Satoru Shinkuma, Hideo Asada.
2. 発表標題 Acneiform eruptions caused by EGFR inhibitors may result from reduced expression of human $\alpha$ -defensin-3 induced by <i>S. epidermidis</i> .
3. 学会等名 International Societies for Investigative Dermatology Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rie Ommori, Yuki Nishimura, Fumi Miyagawa, Chinatsu Shobatake, Kohei Ogawa, Satoru Shinkuma, Hideo Asada.
2. 発表標題 Cutaneous adverse events caused by EGFR inhibitors may result from reduced expression of human $\alpha$ -defensins induced by staphylococci.
3. 学会等名 46th Annual Meeting of JSID (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 御守里絵、西村友紀、正嶋千夏、小川浩平、宮川史、新熊悟、浅田秀夫
2. 発表標題 EGFR阻害薬によるブドウ球菌由来の $\alpha$ -defensin産生阻害とざ瘡様皮疹発症への影響
3. 学会等名 第51回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rie Ommori, Yuki Nakamura, Fumi Miyagawa, Chinatsu Shobatake, Kohei Ogawa, Fumikazu Koyama, Masayuki Sho, Ichiro Ota, Tadashi Kitahara, Shigeto Hontsu, Sigeo Muro, Hideo Asada.
2. 発表標題 Reduced induction of human $\alpha$ -defensins is involved in the pathological mechanism of cutaneous adverse effects caused by EGFR monoclonal antibodies.
3. 学会等名 45th Annual Meeting of JSID (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 御守里絵、西村友紀、正畠千夏、小川浩平、宮川史、浅田秀夫
2. 発表標題 表皮自然免疫応答に着目したEGFR阻害薬による薬疹の病態解明
3. 学会等名 第50回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2020年

〔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