

令和 6 年 5 月 11 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08334

研究課題名（和文）角質細胞を用いた乾癬の病勢バイオマーカーの確立

研究課題名（英文）Establishment of psoriasis biomarkers using keratinocytes

研究代表者

石河 晃（Ishiko, Akira）

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：10202988

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）：多数の乾癬患者からテープストリッピング法を用いて角質細胞を採取し、S100A8/A9を定量し、病勢バイオマーカーとしての有用性を検討した。乾癬における角質細胞S100A8/A9はPASIスコアと弱い相関を示し、治療前後におけるPASIの動きと平行に推移した。経時的なS100A8/A9の定量においても病勢と平行に推移した。また、測定部位と同部位のmPASIとの相関を検討したところ、全身PASIスコアよりも相関が強いことがみられた。S100A8/A9は治療種類によらず局所の皮疹の病勢を鋭敏に反映し、乾癬の局所療法の治療評価に於いて客観的な病勢バイオマーカーとなり得ることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾癬の病勢を評価する方法は医師が患者の皮膚症状を診察し、主観的に算出するPASIスコアが汎用されている。我々が用いたテープストリッピング法を用いて角質細胞を採取し、S100A8/A9を定量する方法は、乾癬患者の病態、病勢を反映する非侵襲的で客観的な病勢バイオマーカーとして極めて有用であることが示され、乾癬患者の治療アウトカムの客観的な評価が可能となり、薬剤開発の臨床試験への応用などが期待できる。

研究成果の概要（英文）：We quantified S100A8/A9 in corneocytes taken by tape stripping method from many psoriasis patients and investigated its usefulness as a disease biomarker. The corneocyte S100A8/A9 showed a weak correlation with PASI score, which was parallel to the movement of PASI before and after treatment. The temporal S100A8/A9 quantification also paralleled disease activity. The correlation between S100A8/A9 and the mPASI score at the same site of measurement was stronger than that of the whole-body PASI score, indicating that S100A8/A9 is an objective biomarker of disease status in the evaluation of local therapy for psoriasis, regardless of the type of treatment.

研究分野：医学 皮膚科学

キーワード：乾癬 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乾癬は原因不明の炎症性角化症で発症すると生涯持続する可能性が高い難治性疾患であるが、生物学的製剤が多数開発され、治療は劇的な進歩を遂げた。しかし、副作用、コスト等の問題もあり、さらなる治療戦略が模索されている。

乾癬の病勢を評価する方法は医師が患者の皮膚症状を診察し、皮疹の程度、分布などを主観的にスコア化して算出する PASI スコアが汎用されている。しかし、客観性に欠けるため、評価者間でスコアのばらつきがあり、正確な病勢評価法としては課題が残る。

我々は、「乾癬患者の病態、病勢を反映する非侵襲的で客観的なバイオマーカーはないか？」をリサーチクエストンとして掲げた。

乾癬の病態には IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、IL-23、IL-22 等の種々の炎症性サイトカインが関与して表皮角化細胞の増殖や分化異常を惹起することが明らかにされている。しかし、これらは皮膚バリアの内側(主として真皮)における変化であり、皮膚生検を行う以外には評価することができず、実臨床においてバイオマーカーとして寄与できない。また、血清中の蛋白は他の臓器・組織の炎症による影響を受けやすく、モニタリングとして問題が生じうる。そこで我々は乾癬の病態形成の中心的な細胞である表皮角化細胞に注目し、それが最終分化したものである角質細胞は簡便に採取できることに着目した。

S100A8/A9 は、様々な臓器に発現する蛋白であり、炎症に伴い発現が亢進することが知られている。皮膚では表皮の分化に関わり、抗菌ペプチドとしても機能している因子であり、動物実験により乾癬の病因に深く関わっていることが想定されている蛋白である。本研究開始までに我々は平成 28 年度からの 4 年間、文部科学省の私立大学研究ブランディング事業の一つとして乾癬患者から角質細胞をテープストリッピング法を用いて採取し、S100A8/A9 を定量する方法を確立した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低侵襲なテープストリッピング法により採取した角質細胞を検体として S100A8/A9 の発現を解析し、乾癬の病態、病勢を反映する新しい検査法として確立させ実用化に結びつけることにある。

3. 研究の方法

(1) 角質細胞 S100A8/A9 を経時的に計測し、治療変更時の乾癬患者の重症度の推移と S100A8/A9 の発現推移の時間的関係性を明らかにする。すなわち PASI 変化に先行して病勢を把握できる病勢モニタリングバイオマーカーとしての鋭敏度を明らかにする。

東邦大学医療センター大森病院皮膚科を新規受診あるいは受診継続している乾癬患者(尋常性乾癬、乾癬性関節炎)を対象とする。患者同意取得後、頭部、体幹部、上肢、下肢の病変部(皮疹部)及び健常部(無疹部)の各 2 か所からテープストリッピング法にて角質細胞を採取する。また、同時に、患者の病勢評価として PASI (Psoriasis Area and Severity Index) スコアを算出する。サンプルの採取は、患者が受診する毎に経時的に測定する。

具体的には皮疹部と近傍の無疹部から長さ約 10 cm のセロハンテープ(ニチバン)を用いて複数回、同じ部位からテープストリッピングによって角層細胞を採取する。採取したセロハンテープの 2 枚目を細切して 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0) バッファーに浸漬し、超音波で角層細胞を破碎する。抽出液中の角層総タンパク量を DC プロテインアッセイキット (Bio-Rad) で、S100A8/A9 量を Human S100A8/A9 Heterodimer Quantikine ELISA Kit (R&D systems) を用いてそれぞれ定量し、総タンパク 1 mg 中に含まれる S100A8/A9 の値を算出した。

(2) 乾癬患者の治療内容の違い(特に生物学的製剤の点滴や皮下注射、免疫抑制剤や分子標的薬内服)と S100A8/A9 の変動に関連性はあるか検討を加えることにより、S100A8/A9 の変化が、治療反応性の推定や予後を予測できる予測バイオマーカーとして使用できるか明らかにする。

4. 研究成果

まず、乾癬患者 53 例の解析結果をこの研究期間に解析し、論文として報告した^{1,2)}。

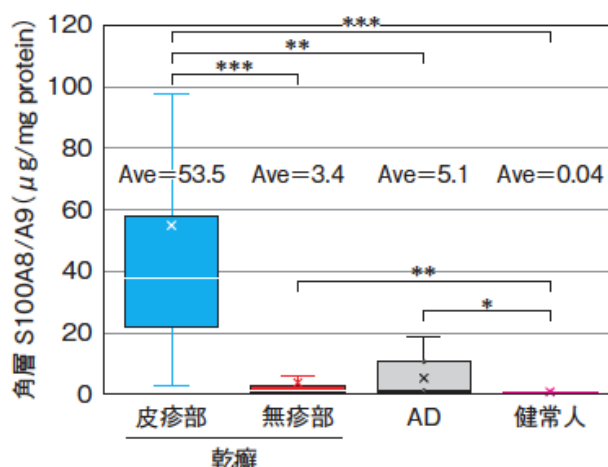


図1 疾患別・角層 S100A8/A9 の発現量

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

乾癬の病変皮膚の角質細胞における S100A8/9 の発現量は、非病変皮膚およびアトピー性皮膚炎患者皮膚、健康者皮膚における発現量よりも有意に高かった（図 1）。尋常性乾癬と乾癬性関節炎の間に有意差は認められなかった。乾癬における角質細胞 S100A8/A9 は PASI スコアと弱い相関を示した ($R=0.265, p=0.019$ 図 2)。また、各種生物学的製剤の種類によらず、治療効果を非常に鋭く反映し、治療前後における PASI の動きと平行に推移し、S100A8/A9 も検出限界以下となった（図 3）。内服治療患者（図 3 赤矢印の症例）においては PASI 改善の停滞を反映し、S100A8/A9 も減少したものの、検出限界以下とはならなかった。

次に、同一症例で経時的に 3 回 S100 の蛋白定量を行った。その結果外用薬のみで治療した患者（図 4）アプレミラスト内服で治療した患者（図 5）のいずれも皮疹改善と並行して S100A8/9 は推移した。この結果から S100A8/9 の変化は薬剤そのものの影響を直接受けたものではなく、局所の病勢の推移を反映したものであることが示唆された

PASI スコアは全身の皮疹の病勢を加重平均した主観的病勢スコアであるが、各身体部位ごとの主観的病勢スコアである mPASI と角質細胞 S100A8/A9 との関連をみるため頭皮、体幹、四肢から角層を採取し、部位別 PASI スコア改善率および S100 改善率をそれぞれ求め、両者の相関性について検討した。その結果上肢、下肢に於いて PASI 改善率と S100A8/9 改善率とは相関係数 $0.88(p=0.002)$ と $0.73(p=0.005)$ と高い相関を認めたと（図 6）、これは前述の全身の PASI スコアとの相関 ($r=0.265, p=0.02$) よりもはるかに高いものであった。すなわち角質細胞 S100A8/9 は全身の炎症状態ではなく皮疹部局所の病勢を鋭敏に反映することが示唆された。

以上の結果より、S100A8/A9 は局所の皮疹の病勢を鋭敏に反映しているものであり、乾癬の局所療法の治療評価に於いて客観的な病勢バイオマーカーとなり得ることが示された。

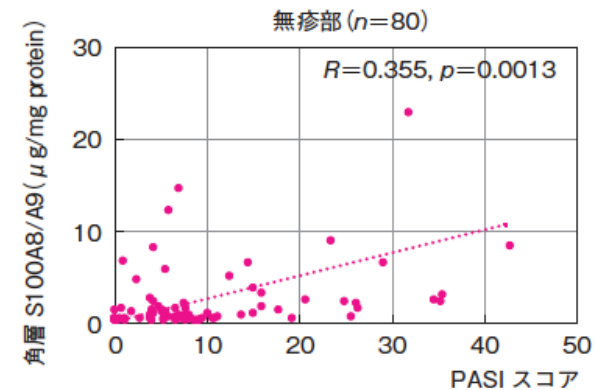
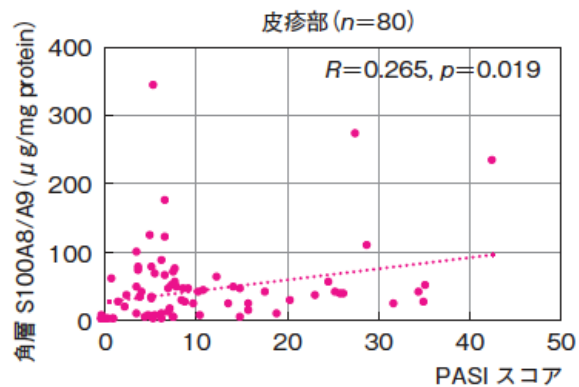


図 2 角質細胞 S100A8/A9 と PASI スコアの相関

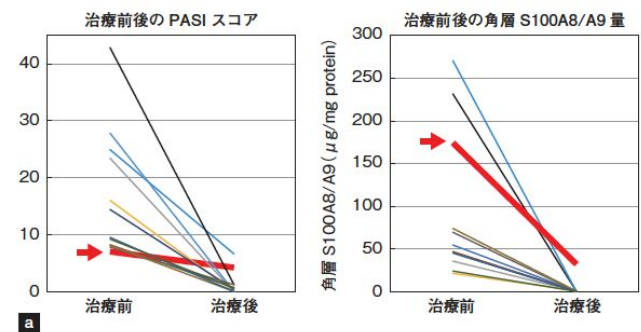


図 3 治療前後の角質細胞 S100A8/A9 の推移

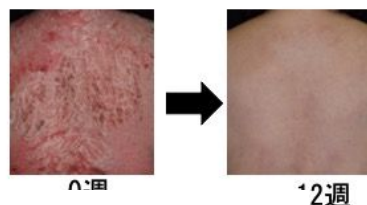
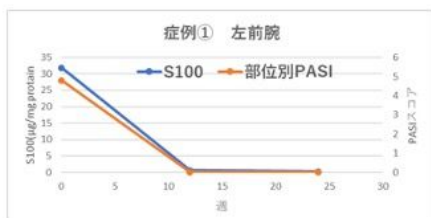
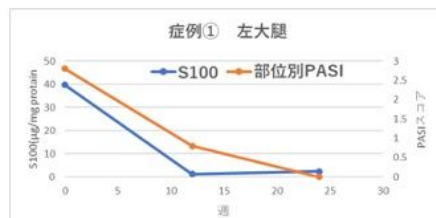
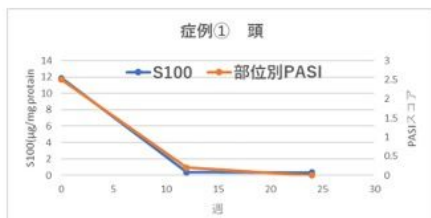
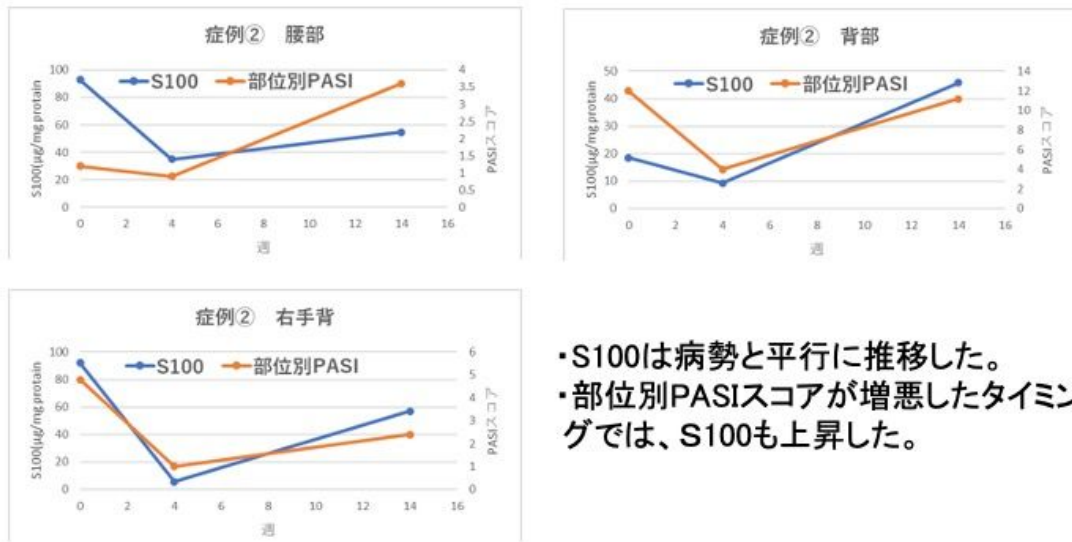


図 4 58 歳女性 配合フォーム剤外用による治療経過



・S100は病勢と平行に推移した。
 ・部位別PASIスコアが増悪したタイミングでは、S100も上昇した。

図5 71歳男性 アプレミラスト内服による治療経過

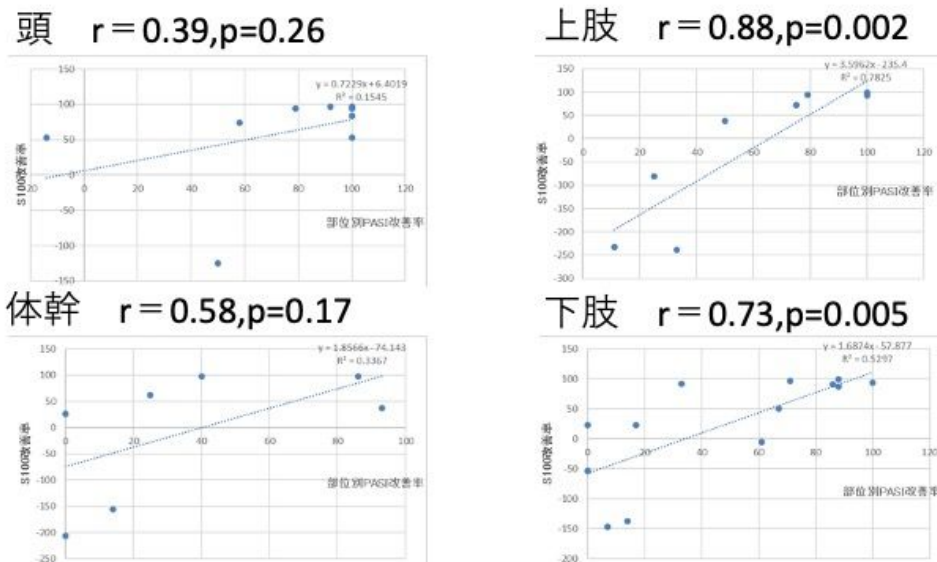


図6 7部位別のS100A8/A9改善率とmPASIスコアとの相関

<引用文献>

1. Matsunaga Y, Hashimoto Y, Ishiko A. Stratum corneum levels of calprotectin proteins S100A8/A9 correlate with disease activity in psoriasis patients. J Dermatol. 2021 Oct; 48(10):1518-1525. doi: 10.1111/1346-8138.16032.
2. 松永 由紀子, 橋本 由起, 石河 晃: 乾癬病勢のバイオマーカーとしての角層中のS100A8/A9. 臨床皮膚科 76 巻 5 号 Page93-96(2022.04)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1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 Matsunaga Y, Hashimoto Y, Ishiko A	4. 巻 48
2. 論文標題 Stratum corneum levels of calprotectin proteins S100A8/A9 correlate with disease activity in psoriasis patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 1518-1525
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.16032	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 松永由紀子、橋本由起、石河 晃	4. 巻 76
2. 論文標題 乾癬病勢のバイオマーカーとしての角層中のS100A8/A9	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床皮膚科	6. 最初と最後の頁 93-96
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11477/mf.1412206658	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横田真樹、橋本由起、松永由紀子、石河 晃
2. 発表標題 乾癬患者の角層中S100A8/A9と病勢との関連
3. 学会等名 第38回日本乾癬学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布井 春佳、橋本 由起、中西 理子、石河 晃
2. 発表標題 当院で生物学的製剤を投与した乾癬患者における非造影胸部CTの冠動脈カルシウムスコア
3. 学会等名 第38回日本乾癬学会
4. 発表年 2023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
研究 分担 者	橋本 由起 (Hashimoto Yuki) (60439982)	東邦大学・医学部・講師 (32661)	

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