

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860926

研究課題名(和文)アトピー性皮膚炎の新規治療法の開発

研究課題名(英文)Novel therapeutic strategies for atopic dermatitis

研究代表者

浜坂 明日香 (HAMASAKA, ASUKA)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：60598382

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)：本研究は、アトピー性皮膚炎の新しい治療として、患者皮膚でのフィラグリンの発現そのものを増やすアップレギュレーション治療を確立することを目的とした。今回、日本人アトピー性皮膚炎患者の一部がフィラグリン遺伝子にナンセンス変異やフレームシフト変異を有していることを確認したが、興味深いことに、それらフィラグリン遺伝子変異を持つ患者のほとんどがheterozygoteであった。この結果は、アトピー性皮膚炎患者の大部分にフィラグリン遺伝子プロモーター刺激療法が有効であることを示唆している。また、同時に、本治療法がアトピー性皮膚炎の発症予防にも有効である可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：In this study, I aimed to establish a new therapeutic strategy for atopic dermatitis by increasing filaggrin expression in the epidermis of the patients. I confirmed that some of the AD patients are heterozygous for nonsense or frameshift mutations in the gene encoding filaggrin. These results suggest a possibility that compounds that up-regulate the filaggrin gene promoter can be a potent therapeutic option for atopic dermatitis. This novel therapeutic approach may also be effective for prevention of atopic dermatitis.

研究分野：皮膚科学

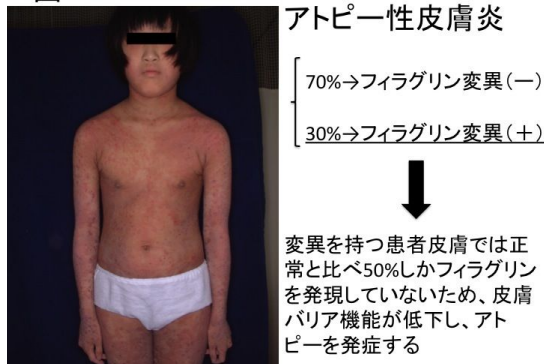
キーワード：アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎(図1)は、小児の約15%が罹患する、極めて頻度の高い疾患である。アトピー性皮膚炎の病因は長らく不明であり、その治療はこれまでステロイド剤外用を中心とした対症療法に頼らざるを得ず、難治例では皮膚萎縮などのステロイドの副作用を高率に生じ、時に大きな社会問題になってきた。ステロイドに代わる新規治療薬の開発が強く求められる中、申請者らは、マクロファージ遊走阻止因子(macrophage migration inhibitory factor)に対するDNAワクチンがDS-NhとNC/Ngaという2つの異なるアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚症状を改善することを示し(Hamasaka A et al, J Allergy Clin Immunol, 2009)、また、NF- β 阻害薬であるdehydroxymethylepoxyquinomicinが、NC/Ngaマウスの皮膚症状を改善することを示し、同薬剤が現在アトピー性皮膚炎患者に対して広く用いられているtacrolimusやbetamethazoneと同等の抗炎症効果を示すことに成功した(Hamasaka A et al, J Allergy Clin Immunol, 2010)。

また、最近我々は、日本人アトピー性皮膚炎患者の約30%がフィラグリン遺伝子にナンセンス変異やフレームシフト変異を有していることを示した(図1)。

図1



フィラグリンは表皮バリア機能に重要なタンパクであることから、フィラグリン変異による皮膚バリア機能の破綻が表皮への

慢性抗原刺激を引き起こし、アトピー性皮膚炎を発症させるものと推測されており、これまで未知であったアトピー性皮膚炎の病因の一部が初めて明らかになった。皮膚バリア機能の破綻に伴う慢性抗原刺激がアトピー性皮膚炎の主要な病因であるというこの新しい仮説が正しければ、皮膚でのフィラグリン産生を増やすことでアトピー性皮膚炎の治療が可能になるはずである。フィラグリン遺伝子変異のheterozygoteでは、変異を持つアレルからはフィラグリンは全く産生されず、正常なアレルからのみフィラグリンが産生されるため、フィラグリン遺伝子変異を持たない健常人と比べ50%のフィラグリンしか産生されない。したがって、フィラグリン遺伝子のプロモーターを刺激し、フィラグリンの発現を高める薬剤を開発することができれば(アップレギュレーション治療)、フィラグリン遺伝子変異のheterozygoteの皮膚においても、正常のアレルからのフィラグリン産生が高まり、皮膚バリア機能が是正されるはずである。このように、フィラグリン遺伝子変異のheterozygoteには本治療法が有効である可能性が高いと考えられる。また、気管支喘息やアレルギー性鼻炎といった他のアトピー性疾患の発症にもフィラグリン遺伝子変異が関係していることが最近明らかにされており、フィラグリン遺伝子のアップレギュレーション治療はこれらの疾患の治療や予防にも有効である可能性が十分期待される。

2. 研究の目的

これまで、アトピー性皮膚炎における皮膚バリア機能の重要性は指摘されてきたが、本研究は、アップレギュレーション治療(図2)を用い、患者皮膚でのフィラグリンの発現そのものを増やすことでバリア機能を是正するという、従来の治療法とは全く異なる独創的な治療法であり、その礎を築くことを目的

とした。

図2

フィラグリン変異のheterozygoteは50%の
フィラグリンしか発現しない



フィラグリン遺伝子のプロモーターを刺激する薬剤

⇒ フィラグリン発現の増加(up-regulation療法)

3. 研究の方法

環境と子供の健康に関する北海道研究（通称：北海道スタディ）は、平成13年からリクルートを開始し、現在、北海道内の約2万人の児が登録している出生コホート研究であり、一般集団を対象にしている。今回の研究では、そのうち、7歳に到達した児1065名を対象にフィラグリン変異（臍帯血）とアトピー疾患の発症率などについて解析した。フィラグリン遺伝子変異については、これまで我々が同定した11種類の変異のうち、頻度の高い8種類のフィラグリン変異（3321delA, S1695X, Q1701X, S2554X, S2889X, S3296X, K4022X, 新規変異1つ）についてSanger法を用いたダイレクトシーケンスでスクリーニングした。アレルギー疾患（アトピー性皮膚炎、気管支喘息）の有無と重症度については、International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)の問診票を用いて、2歳時、4歳時、7歳時に判定し、その発症とフィラグリン遺伝子変異との関連を解析した。

4. 研究成果

1065人中96人にフィラグリン遺伝子変異を認め（heterozygoteが93人、compound heterozygoteが3人）、解析集団の9.3%がフィラグリン遺伝子変異を有していた（図3）。変異の内訳は、3321delA：15人、S1695X：0人、Q1701X：2人、S2554X：11人、S2889X：

38人、S3296X：7人、K4022X：27人、新規変異：2人であった（図3）。

図3

日本人の9.3%がフィラグリン遺伝子変異を持つ

1065名を8種類のフィラグリン変異についてダイレクトシーケンスでスクリーニング

Wild type: 969人
Heterozygote: 96人 **9.3%が変異を保有**
Homozygote: 3人

変異の内訳

3321delA: 15人 S2554X: 11人 K4022X: 27人
S1695X: 0人 S2889X: 38人 新規変異: 2人
Q1701X: 2人 S3296X: 7人

フィラグリン遺伝子変異とアトピー性皮膚炎の関連について解析したところ、2歳時、4歳時では、オッズ比がそれぞれ1.55（95%信頼区間：1.08-2.22）、1.47（95%信頼区間：1.03-2.09）であり有意差を認めたが（図4、図5）、7歳時ではオッズ比が1.34（95%信頼区間：0.95-1.90）であり、有意差を認めなかった。

図4

フィラグリン遺伝子変異の有無によるアトピー性皮膚炎発症率の違い(2歳)
フィラグリン変異(+)90人中25人がアトピー(+)
アトピー発症率:27.8%

フィラグリン変異(-)914人中164人がアトピー(+)
アトピー発症率:17.9%

オッズ比:1.55(95%CI:1.08-2.22), p<0.05

フィラグリン変異(+)群のほうがアトピー発症率が高かった

図5

フィラグリン遺伝子変異の有無によるアトピー性皮膚炎発症率の違い(4歳)
フィラグリン変異(+)82人中25人がアトピー(+)
アトピー発症率:30.5%

フィラグリン変異(-)843人中175人がアトピー(+)
アトピー発症率:20.8%

オッズ比:1.47(95%CI:1.03-2.09), p<0.05

フィラグリン変異(+)群のほうがアトピー発症率が高かった

また、アトピー性皮膚炎の重症度については、フィラグリン遺伝子変異保有群のほうが非保有群と比べて有意に高かった（4歳時）（図

6)

図6

フィラグリン変異とアトピーの重症度(4歳)



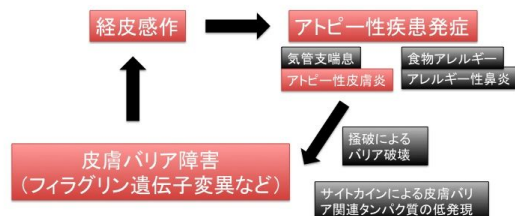
フィラグリン変異(+)群のほうが重症度が高い

しかしながら、変異の種類と重症度の間には明らかな相関は認めなかった。フィラグリン遺伝子変異やアトピー性皮膚炎の有無と気管支喘息の発症率には有意差を認めなかった。

フィラグリン遺伝子変異の保有率については、英国の学童調査では変異の保有率は13.8%であり、北海道八雲町の成人を対象にした八雲スタディでの変異の保有率は11.1%であった。今回の我々の結果でも対象集団の約10%弱が変異を保有しており、フィラグリン遺伝子変異の保有率は日本でも英国でも約10%程度と推測される。人口の少なくとも1割は遺伝的に皮膚バリア機能が低下しており、経皮的に易感作性でアトピー性皮膚炎やその他のアレルギー疾患を発症しやすいことが予想される(図7)。

図7

アトピー性疾患と皮膚バリア障害



フィラグリン遺伝子変異とアトピー性皮膚炎については、すでに欧米のスタディで、フィラグリン遺伝子変異はアトピー性皮膚炎の重要な発症因子であることが示されて

おり(オッズ比: 2.13~4.78)日本人でも両者に有意な相関は認められたが、欧米のデータと比べるとオッズ比はやや低めであった。この点については、今後、日本人においてさらに追加でコホート研究がなされる必要がある。

また、本研究により日本人アトピー性皮膚炎患者の一部がフィラグリン遺伝子にナンセンス変異やフレームシフト変異を有していることを確認したが、興味深いことに、それらフィラグリン遺伝子変異を持つ患者のほとんどが heterozygote であった。以上の結果は、アトピー性皮膚炎患者の大部分にフィラグリン遺伝子プロモーター刺激療法が有効であることを示唆している。また、同時に、本治療法がアトピー性皮膚炎の発症予防にも有効である可能性を示唆している。

今後、フィラグリン遺伝子プロモーターを活性化する薬剤を同定し、実際の患者皮膚でフィラグリンの発現が増加し、アトピー性皮膚炎への治療効果を検討することが望まれる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:

種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浜坂 明日香 (HAMASAKA ASUKA)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：60598382