

## スタチン類の自己免疫疾患に対する治療に関する研究

分担研究者 簗田清次 自治医科大学内科学講座アレルギー膠原病学部門 教授

**研究要旨** スタチン類の多面的効果としての抗リウマチ作用の機序をアポトーシス誘導作用の観点から、今回は *in vitro* での培養滑膜細胞に対するアポトーシス誘導作用の有無を解析すること目的とした。フルバスタチンは RA 由来滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導し、protein geranylgeranylation 阻害に基づき、その下流のシグナルとして Rho/Rho キナーゼ経路の関与が推定された。

### A. 研究目的

スタチン類は HMG-CoA 還元酵素抑制によるコレステロール低下作用以外にも様々な多面的効果 (pleiotropic effect) を持ち、近年、免疫抑制作用を有することが注目されている。その機序として MHC class II の発現低下、LFA-1 と ICAM-1 結合阻害を介する副刺激シグナルの抑制さらに Th1/Th2 バランスの是正などに基づくことが報告されている。我々はスタチン類の免疫抑制作用の機序をアポトーシス誘導作用の観点から研究を進め、脂溶性スタチンのフルバスタチンは活性化 T 細胞に対して *in vitro* だけでなく *in vivo* でもアポトーシス誘導能を有し、その機序として protein farnesylation 阻害に基づくことを見出した。今回はスタチン類の *in vitro* での培養 RA 由来滑膜細胞に対するアポトーシス誘導作用を細胞内シグナル伝達系を含めて検討したので報告する (Arthritis Rheum 54:579-586, 2006)。

### B. 研究方法

アポトーシスは Annexin V を用いた染色法と propidium iodode を用いた DNA loss の定量をフローサイトメーターにて解析した。アポトーシスのシグナル伝達機構の解析は JC-1 を用いたミトコンドリア経路や抗 active caspase-3 抗体を用いてフローサイトメーターで行った。メバロン酸経路の解析は

mevalonate、squalene、farnesyl pyrophosphate、geranylgeranyl pyrophosphate 等の添加により (add-back experiments)、アポトーシスが抑制できるか否かで検討した。

(倫理面への配慮) 当大学の規定に沿ってきちんと行った。

### C. 研究結果

フルバスタチンは濃度 (1-10  $\mu$ M)、時間 (24-120h) 依存性に培養 RA 由来滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導した。一方、培養 OA 由来滑膜細胞に対しては誘導しなかった。そのアポトーシスはミトコンドリア経路を介し、caspase 依存性 (active-caspase3 陽性) であり、mevalonate、geranylgeranyl pyrophosphate 添加で抑制された。また選択的 geranylgeranyl transferase 阻害剤 (GGTI-298) は培養滑膜細胞に対して強いアポトーシス誘導能を示した。さらに Rho キナーゼ阻害剤 (Y27632) はフルバスタチンと同様に RA 由来滑膜細胞にアポトーシスを誘導し、フルバスタチンにより活性化が阻害された RhoA は、細胞膜蛋白分画中から減少し、細胞質分画中で経時的にその増加が観察された。

### D. 考察

フルバスタチンは RA 由来滑膜細胞に対してアポ

トーシスを誘導し、protein geranylgeranylation 阻害に基づき、その下流のシグナルとして Rho/Rho キナーゼ経路の関与が推定された。

副腎皮質ステロイド薬で治療中のリウマチ膠原病症例は高脂血症や動脈硬化を合併しやすく、予後に重大な影響を及ぼすことから、臨床的にスタチン類を併用することが多い。スタチン類のアポトーシスを誘導作用に基づく免疫抑制作用の解析により、スタチン類を自己免疫疾患に対する補助的な免疫調整薬として使用を試みる根拠となりうる。またごく最近、骨粗鬆症治療薬である bisphosphonates にもメバロン酸経路を介した破骨細胞アポトーシスを誘導作用が報告されており、bisphosphonates の滑膜細胞に対するアポトーシスを誘導能も解析中である。

#### E. 結論

脂溶性スタチン類は培養 RA 由来滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導した。スタチン類にみられる抗リウマチ作用機序の1つとして、増殖滑膜細胞への直接作用の存在が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことはない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kamimura, T., Hatakeyama, M., Okazaki, H., Minota, S.: Kikuchi's disease involving the supraclavicular lymph nodes and associated with transient eruption. *Rheumatol Int* 25: 143-145, 2005.
- 2) Kamata, Y., Nara, H., Sato, H., Masuyama, J., Minota, S., Yoshio, T.: Effect of steroid pulse therapy on mixed connective tissue disease with pulmonary arterial hypertension. *Ann Rheum Dis* 64(8): 1236-1237, 2005.
- 3) Yoshio, T., Hirata, D., Onda, K., Nara, H., Minota, S.: Antiribosomal protein antibodies in cerebrospinal fluid are associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 32(1): 34-39, 2005.
- 4) Kamata, Y., Kamimura, T., Iwamoto, M., Minota, S.: Comparable effects of sildenafil citrate and alprostadil on severe Raynaud's phenomenon in a patient with systemic sclerosis. *Clin Exp Dermatol* 30(4): 451, 2005.
- 5) Kamata, Y., Kamimura, T., Haneda, K., Masuyama, J., I., Okazaki, H., Minota, S.: Striking fall of the arterial oxygen pressure induced by positional change in a case of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 14: 641-642, 2005.
- 6) Iwamoto, M., Homma, Y., Asano, Y., Minota, S.: Administration of leflunomide to a patient with rheumatoid arthritis on haemodialysis. *Scand J Rheumatol* 34(5): 410-411, 2005.
- 7) Iwamoto, M., Toma, S., Nara, H., Sato, H., Minota, S.: A case of food-dependent exercise-induced anaphylaxis by grapefruit. *Allergol Int* 54(3): 345-349, 2005.
- 8) Kamimura, T., Hatakeyama, M., Torigoe, K., Nara, H., Kaneko, N., Satou, H., Yoshio, T., Okazaki, H., Minota, S.: Muscular polyarteritis nodosa as a cause of fever of undetermined origin: a case report and review of the literature. *Rheumatol Int* 25: 394-397, 2005.
- 9) Nagashima, T., Masuyama, J., Okubo, H., Minota, S.: Marked dilatation of pulmonary arteries in mixed connective tissue disease. *J Rheumatol* 32(6): 1168-1169, 2005.
- 10) Yoshio, T., Onda, K., Nara, H., Minota, S.: Association of IgG Anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 54(2): 675-678, 2006.
- 11) Nagashima, T., Okazaki, H., Yudoh, K., Matsuno, H., Minota, S.: Apoptosis of rheumatoid synovial cells by statins through blocking of protein geranylgeranylation. A potential therapeutic approach to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 54(2): 579-586, 2006.
- 12) Kamimura, T., Sato, H., Iwamoto, M., Nara, H.,

Torikoe, K., Masuyama, J., Okazaki, H., Minota, S.: Sjögren's syndrome associated with chronic hepatitis C, severe thrombocytopenia, hypertrophic cardiomyopathy, and diabetes mellitus. Intern Med 44(6): 657-661, 2005.

## 2. 学会発表

- 1)長嶋孝夫, 岡崎仁昭, 簗田清次: ビスホスフォネートの RA 由来滑膜細胞に対するアポトーシス誘導能の検討. 第 48 回日本リウマチ学会総会, 岡山, 平成 16 年 4 月 16 日.
- 2)長嶋孝夫, 岡崎仁昭, 簗田清次: 活動期 SLE 患者末梢血リンパ球の CRTH2 と ST2L の発現様式. 第 48 回日本リウマチ学会総会, 岡山, 平成 16 年 4 月 15 日.
- 3)木村洋貴, 羽田兼吾, 高橋裕子, 長嶋孝夫, 吉尾卓, 岡崎仁昭, 簗田清次: フローサイトメーターを用いた膠原病患者の循環血管内皮細胞 (CECs) の解析. 第 32 回日本臨床免疫学会総会, 東京, 平成 16 年 10 月 8 日.
- 4)長嶋孝夫, 上村健, 奈良浩之, 岩本雅弘, 岡崎仁昭, 簗田清次: 手指壊疽を来たした木村病の 1 例. 第 17 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 岡山, 平成 17 年 6 月 3 日.
- 5) 釜田康行, 岩本雅弘, 高橋裕子, 青木葉子, 松井圭司, 村上善昭, 室井一男, 池田宇一, 島田和幸, 簗田清次: 膠原病関連阻血指趾に対する自己骨髄血および末梢血由来単核細胞を用いた血管新生療法. 第 26 回日本炎症・再生医学会, 東京, 平成 17 年 7 月 13 日.
- 6)奈良浩之, 吉尾卓, 佐久間裕司, 齋藤建, 簗田清次: 膠原病肺高血圧症における肺動脈 PGI<sub>2</sub> 合成酵素発現の検討. 第 42 回日本臨床分子医学会学術集会, 京都, 平成 17 年 7 月 22 日.
- 7) 青木葉子, 長嶋孝夫, 碓井雅博, 岩本雅弘, 吉尾卓, 岡崎仁昭, 簗田清次: Hypereosinophilic syndrome (HES) の経過中に好酸球性蜂窩織炎 (Wells 症候群) 様症状を呈した 1 例. 第 33 回日本臨床免疫学会総会, 京都, 平成 17 年 10 月 28 日.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

## Laser-microdissection(LMD)法によるループス腎炎浸潤 T 細胞の解析に関する研究

分担研究者 伊藤 聡 筑波大学大学院人間総合科学研究科先端応用医学専攻臨床免疫学 講師

**研究要旨** ループスモデルマウスである MRL/lpr の腎炎とヒトループス腎炎において、LMD 法と RT-PCR 法を用いてサイトカインバランスを解析した。MRL/lpr マウスでの糸球体病変は、主に Th1 タイプ、血管周囲病変は Th1、Th2 タイプ、ヒトループス腎炎 IV 型では、Th2 タイプの免疫反応が関与している可能性が示唆された。LMD 法と RT-PCR 法を用いた解析は、ループス腎炎のサイトカインバランスを明らかにする上で有用であると考えられた。

### A. 研究目的

ループスモデルマウスである MRL/lpr の腎炎とヒトループス腎炎において、LMD 法と RT-PCR 法を用いてサイトカインバランスを解析し、それぞれの病態を明らかにする。

### B. 研究方法

I) MRL/lpr マウスでの研究：5 匹の雌を 20-24 週例で屠殺し、顕微鏡で糸球体腎炎、血管炎の存在を確認した。次に糸球体ならびに血管周囲浸潤細胞を LMD 法で単細胞レベルでくり抜いた。さらに糸球体、糸球体とほぼ同じ大きさの血管周囲浸潤細胞をくり抜いた検体を pool したものを準備した(図 1)。total RNA を抽出し cDNA を合成、RT-PCR 法にて  $\beta$ -actin、Thy1、B-220、TCR-C $\beta$ 、CD4、CD8、IL-2、IL-4、IL-10、IFN $\gamma$  遺伝子発現を行った。II) ヒトループス腎炎での研究：7 例での腎生検検体で検討した。これらは ISN/RPS 分類(旧 WHO 分類)で、III 型 1 例、IV 型 4 例、V 型 2 例であった。ヒトではすべて糸球体浸潤細胞を単細胞レベルでくり抜いた(図 2)。RT-PCR 法にて  $\beta$ -actin、TCR-C $\beta$ 、CD4、CD8、IL-2、IL-4、IL-10、IFN $\gamma$  遺伝子発現を行った。

(倫理面への配慮) 研究については筑波大医の倫理委員会の承認を得た。研究方法、発表形式について患者に説明を行い、文書で同意を得た。

### C. 研究結果

I) MRL/lpr マウスでの研究： $\beta$ -actin は単細胞レベルで確認できたが、それ以上の解析は不可能であり、以後は糸球体 5 ケから 10 ケ、あるいはそれに相当する範囲の血管周囲浸潤細胞のプールを使用した。5 匹からの、16 検体を解析した結果、糸球体、血管周囲ともに、Thy-1 陽性、B220 陽性であり、糸球体では、CD4、CD8 の陽性率は共に 6.3%と低かったが、血管周囲では、それぞれ 50.0%、18.8%が陽性であった(図 3)。糸球体では、IFN $\gamma$  が 81.3%に陽性、血管周囲では、56.3%に陽性であった。一方、糸球体では、IL-4、IL-10 は陰性であったが、血管周囲では、IL-4 が 6.3%、IL-10 が 68.8%に陽性であった(図 4)。II) ヒトループス腎炎での研究：IV 型以外の検体では、TCR-C $\beta$  陽性細胞は得られなかった。IV 型 4 例では、糸球体、間質からそれぞれ 4 ケの T 細胞が得られ、糸球体の 1 ケが CD8 陽性、1 ケが CD4、CD8 のどちらも陰性であったが、糸球体の 2 ケと間質の 4 ケ、計 6 ケは、CD4 陽性であった(図 5)。これらの T 細胞は、IFN $\gamma$  は産生していなかったが、糸球体の 1 ケを除く 7 ケで IL-2 の発現を認めた(図 6)。間質の 1 ケ、糸球体の 1 ケで IL-4 の発現を認め、糸球体 1 ケを除く 7 ケで IL-10 の発現を認めた(図 6)。

### D. 考察

MRL/lpr マウスでは、従来報告されているよ

うに、糸球体病変は Th1 タイプの免疫反応により惹起されていると考えられた。一方、血管炎には、Th2 タイプの免疫反応も関与していると考えられた(図 7)。ヒトループス腎炎については、結果の得られた IV 型 4 例では、Th2 タイプ優位と考えられたが(図 8)、さらに症例を増やして検討する必要があると思われた。

#### E. 結論

MRL/lpr マウスでの糸球体病変は、主に Th1 タイプ、血管周囲病変は Th1、Th2 タイプ、ヒトループス腎炎 IV 型では、Th2 タイプの免疫反応が関与している可能性が示唆された。LMD 法と RT-PCR 法を用いたサイトカイン産生の解析は、ループス腎炎のサイトカインバランスを明らかにする上で有用であると考えられた。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakano M, Ueno M, Hasegawa H, Kuroda T, Ito S, et al. Renal haemodynamic characteristics and their correlation with renal pathology in patients with systemic lupus erythematosus. *Nephrology* 6;33-36, 2001
2. Nakano M, Hasegawa H, Takada T, Ito S, et al. Pulmonary diffusion capacity in patients with systemic lupus erythematosus. *Respiratology* 7;45-49, 2002
3. Kobayashi T, Ito S, et al. Risk of Periodontitis in Systemic Lupus Erythematosus is Associated with Fcγ Receptor Polymorphisms. *J Periodontology* 74; 378-384, 2003
4. Ito S, et al. Patient with diffuse mesangial and endocapillary proliferative glomerulonephritis with hypocomplementemia and elevated anti-streptolysin O treated with prednisolone, angiotensin-converting enzyme inhibitor, and angiotensin II receptor antagonist. *Clin Exp Nephrol* 7:290-295, 2003
5. 伊藤 聡. 難治性病態の治療戦略. ループス腎炎 内科 93;283-287, 2004

6. Takahashi R, Tsutsumi A, Ohtani K, Goto D, Matsumoto I, Ito S, et al. Anti-mannose binding lectin antibodies in sera of Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 136:585-590, 2004

7. Yoko W, Ito S, et al. Renal outcome and predictors of clinical renal involvement in patients with silent lupus nephritis. *Nephron* 98:105-111, 2004

8. Miyahara S, Ito S, et al. Two cases of systemic lupus erythematosus complicated with colonic ulcers. *Intern Med* 44: 1298-1306, 2005

9. Suzuki E, Hayashi T, Ito S, et al. A Case of Pulmonary Hypertension Associated with Systemic Lupus Erythematosus without Anti-ribonucleoprotein Antibodies. *Acta Med Biol* 53: 87-93, 2005

##### 2. 学会発表

1. 村田秀行、他 ループス腎炎患者内浸潤 T 細胞サイトカインの単細胞レベルでの解析 第 47 回日本リウマチ学会、2003 年
2. 千野裕介、伊藤 聡、他 Laser- microdissection (LMD)法によるループス腎炎モデルマウス (MRL/lpr マウス) の腎浸潤 T 細胞の解析 第 34 回日本免疫学会、2004 年
3. 千野裕介、伊藤 聡、他 Laser- microdissection (LMD)法によるループス腎炎モデルマウス (MRL-lpr マウス) の腎浸潤 T 細胞の解析 第 49 回日本リウマチ学会、2005 年
4. Chino Y, Ito S, et al. Analysis of T cells infiltrating in the kidney of MRL-lpr mouse by Lasermicro dissection. The First East Asian Group of Rheumatology (EAGOR) meeting、2005
5. 千野裕介、伊藤 聡、他 Laser- microdissection (LMD)法による MRL/lpr マウスの腎浸潤 T 細胞の解析 第 35 回日本免疫学会、2005

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

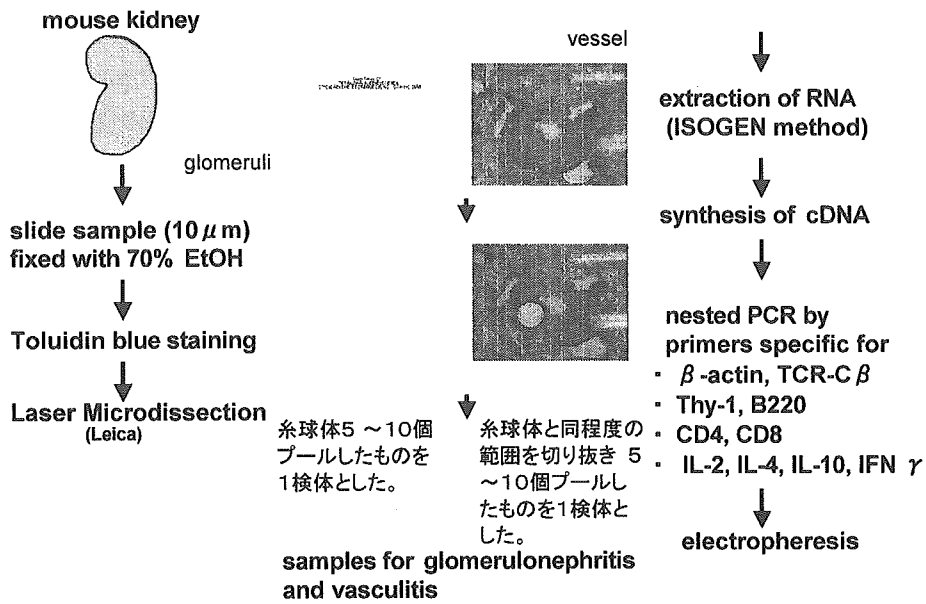


図1 実験方法(マウス)

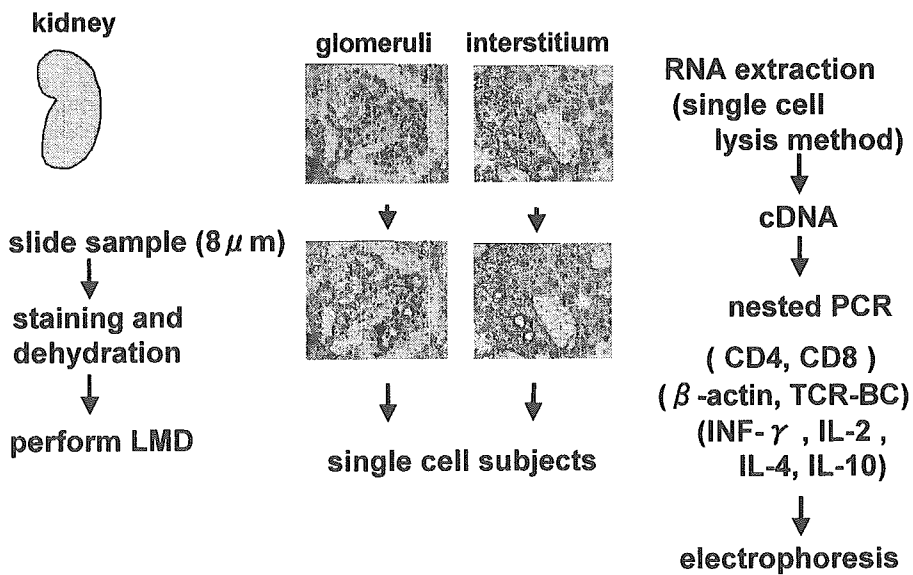


図2 実験方法(ヒト)

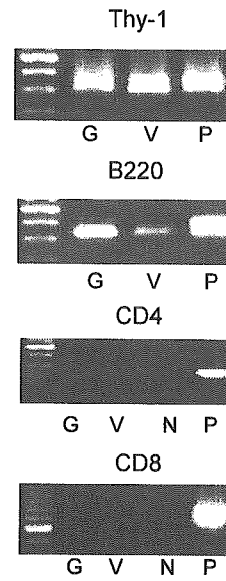
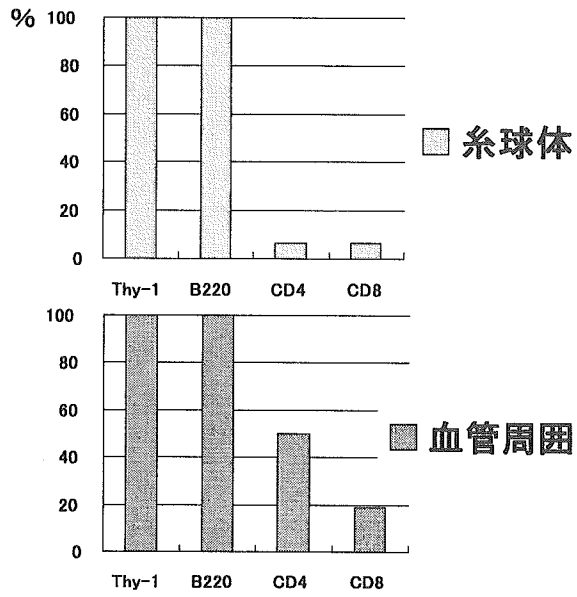


図3 thy-1, B220, CD4, CD8の発現率

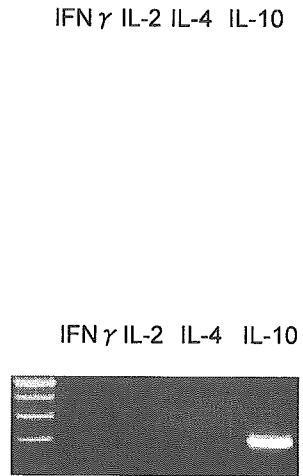
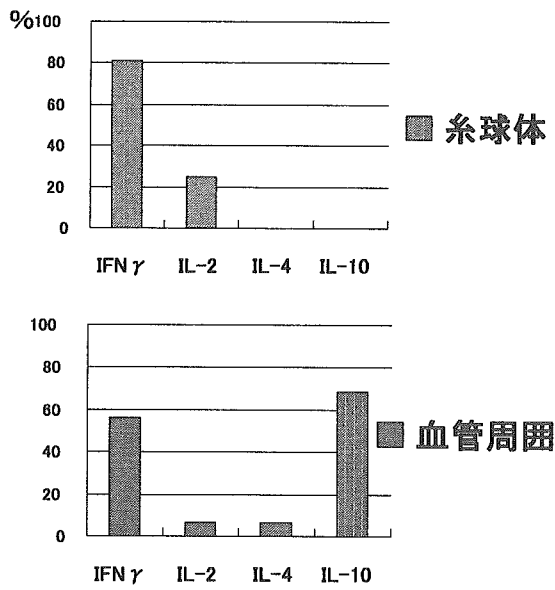


図4 IFNγ, IL-2, IL-4, IL-10の発現率

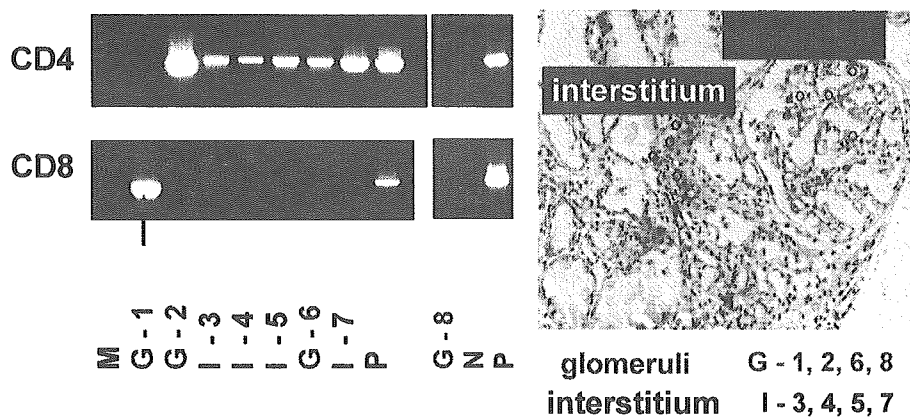


図5 T cell phenotype (ヒト)

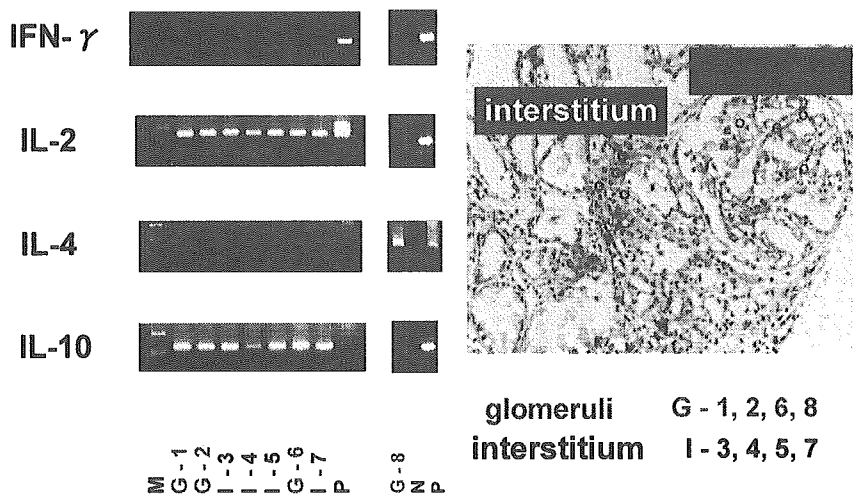


図6 サイトカイン発現(ヒト)



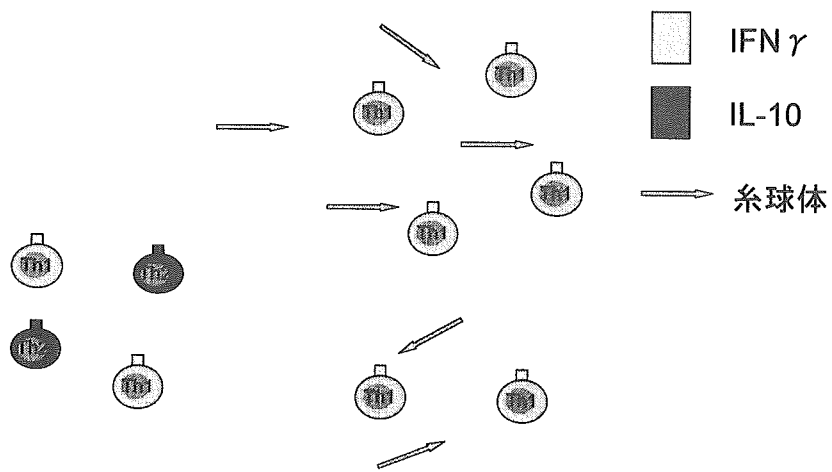


図7 シェーマ(マウス)

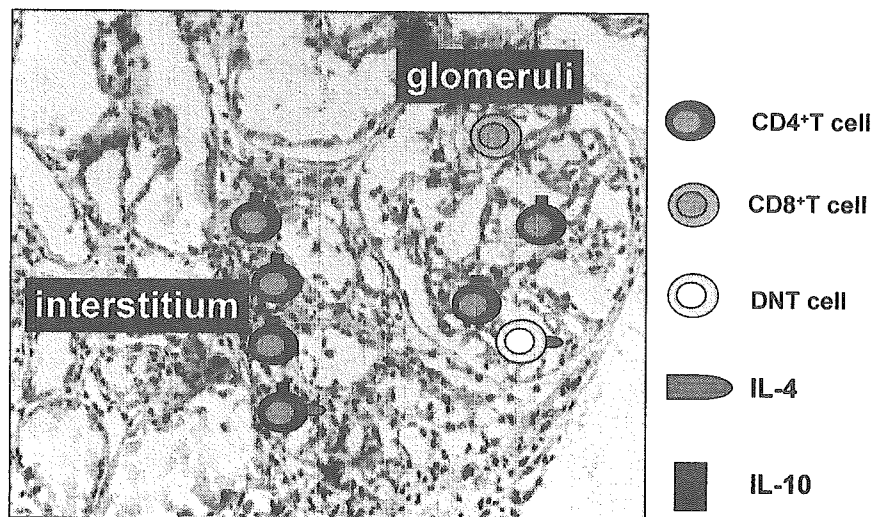


図8 シェーマ(ヒト)

## SLE における樹状細胞機能に関する研究

分担研究者 三村俊英 埼玉医科大学医学部リウマチ膠原病科 教授

**研究要旨** 全身性エリテマトーデス（SLE）において、発症・病態形成に中心的に関与する可能性のある、末梢血由来樹状細胞（DC）の機能を検討した。in vitro において、SLE 由来 DC は、健常者由来 DC と同様に細胞表面マーカー上は分化・成熟した。しかし、未熟 DC による endocytosis 能は、SLE 患者からのものでは健常者由来のものに比して有意に低下していた。このことが、SLE における免疫障害に関与する可能性があり、SLE の病態に何らかの役割を担っていると考えられる。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）においては、感染症は頻度の高い致命的合併症である。一部は治療関連性であるが、それ以外にも易感染性は SLE において重大な問題である。また、SLE においては、免疫複合体（IC）のクリアランスに障害があると報告が近年見られる。樹状細胞は、免疫系において、抗原の貪食、他細胞への強力な抗原提示などを行う重要な細胞である。当該研究においては、SLE の病態に関与すると推定される、末梢血由来樹状細胞（DC）の機能を解析し、病態の解明を目指すことを目的とする。

### B. 研究方法

SLE および健常者から末梢血単核細胞（PBMCs）を獲得し、磁気分離により CD14 陽性細胞を分離した。この細胞を用い、通常の方法にて DC へと分化させた。つまり、サイトカインカクテル（IL-4, GM-CSF）存在下で7日間培養し、未熟 DC とした。成熟 DC は、この未熟 DC にその後 TNF- $\alpha$  を添加し、さらに3日間培養して得た。DC の細胞表面分子発現は、蛍光標識抗体をマーカーとして FACS にて検討した。また、未熟 DC の endocytosis 能は FITC 結合デキストランを用い、蛍光顕微鏡下、および FACS（セルソーター）にて計測した。

（倫理面への配慮） 事前に患者本人および健常者へのインフォームドコンセント（自由意思

での血液の提供、患者名の連結可能匿名化、当該研究のみへの使用）を行った。

### C. 研究結果

SLE 患者4名から採取した末梢血 CD14 陽性細胞は、通常の方法にて培養することで、健常人由来細胞と同様に DC に分化した。さらに、TNF- $\alpha$  添加により成熟 DC としての表面マーカーの発現が、健常者由来細胞と同様に SLE 患者由来細胞においても見られることを確認した（図省略）。一方、未熟 DC の endocytosis 能は、健常者由来細胞に比して SLE 患者由来の未熟 DC において低下していることが明らかになった（典型的結果を図に示す）。

### D. 考察

SLE においては、易感染性、IC クリアランス能の低下が示されており、その中心に末梢血由来 DC（mDC）の機能障害が存在する可能性がある。本研究において、SLE 末梢血由来 DC は、健常者由来細胞と同様に、DC に分化し、同様に細胞表面マーカーを発現することが確かめられた。しかし、SLE 由来 DC は、FITC 結合デキストランの endocytosis 能に有意な低下を示した。このことが、SLE の発症および病態維持に関与する可能性が考えられる。一方、分担研究者らは、HMA-CoA reductase 阻害剤（statin）が、関節リウマチの活動性を抑制し、末梢血 Th1/Th2 バランスを Th2 側へシフトする事を報

告している (Kanda et al., 2004, Arthritis & Rheumatol.).そして、この機序として末梢血由来 DC におけるデキストラン endocytosis 能の抑制を明らかとした (昨年の本研究班にて発表、および Yoshida et al. 原稿準備中)。これは、SLE における未熟 DC の endocytosis 能低下に現象としては類似しており、どちらも Th2 バランスの優位を示すなどの特徴もある。今後、これらの現象が、SLE の病態にどのように関与するのか、さらなる検討を行う予定である。その上で、問題となるのは、SLE 患者白血球数は、末梢血においては低下しており、本研究に用いる白血球数を確保することが、困難な点である。そのため、本研究においては十分な患者数を得ることが出来なかった。今後何らかの方法により、この問題点を克服する必要がある。

## E. 結論

SLE においては、白血球の減少があり免疫機能が障害されていると予想されていたが、それのみならず、SLE 由来未熟 DC は、endocytosis 能に有意な低下を示した。このように、SLE の白血球は数の異常だけではなく、機能 (質) の異常も示していることが明らかになった。白血球の機能異常、特に未熟 DC の機能低下は、SLE の発症および病態維持に関与する可能性が考えられる。

## F. 健康危機情報

該当せず

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yokota, K., Miyazaki, T., Hirano, M., Akiyama, Y., Mimura, T. Simvastatin Inhibits Production of IL-6 and IL-8 and Cell Proliferation Induced by TNF- $\alpha$  in the Fibroblast-Like Synoviocytes from Rheumatoid Arthritis Patients. J. Rheumatol. (2006, in press)
2. Takeishi, M., Akiyama, Y., Akiba, H., Adachi, D., Hirano, M. and Mimura, T. Leflunomide-induced acute interstitial pneumonia. J. Rheumatol. 32; 1160-1165, 2005
3. Sato K, Tateishi S, Kubo K, Mimura T,

Yamamoto K, Kanda H. Downregulation of IL-12 and a Novel Negative Feedback System Mediated by CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells Biochem Biophys Res Commun. 330; 226-232, 2005

4. Kanda, H., Kubo, K., Tateishi, S., Sato, K., Yonezumi, A., Yamamoto, K., and Mimura, T. Antiproteinuric effect of ARB in lupus nephritis patients with persistent proteinuria despite immunosuppressive therapy. Lupus14; 288-292, 2005

5. Satoh, K., Satoh, U., Tateishi, S., Kubo, K., Horikawa, R., Mimura, T., Yamamoto, K., and Kanda, H. Aire downregulates multiple molecules that have contradicting immune-enhancing and immune-suppressive functions. Biochem. Biophys. Res. Commun. 318, 935-940, 2004

## 2. 学会発表

1. Simvastatin inhibits production of IL-6 and IL-8 and cell proliferation induced by TNF- $\alpha$  in the fibroblast-like synoviocytes from RA patients、横田和浩、平野資晴、吉田佳弘、上川哲平、阿達大介、秋葉春彦、竹石美智雄、秋山雄次、金 潤澤、三村俊英、第 3 3 回日本臨床免疫学会総会、2005

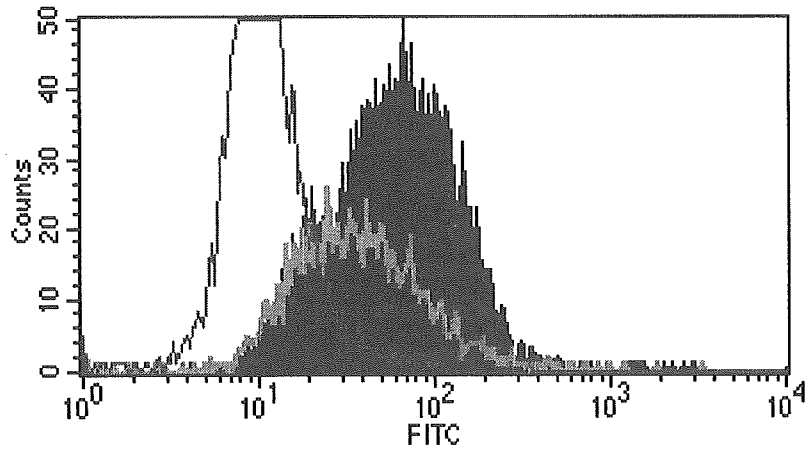
2. シンバスタチンによる関節リウマチ滑膜細胞線維芽細胞の IL-6、IL-8 産生抑制、横田和浩、平野資晴、吉田佳弘、上川哲平、阿達大介、秋葉春彦、竹石美智雄、秋山雄次、金 潤澤、三村俊英、第 4 9 回日本リウマチ学会、2005

3. Simvastatin reduces the disease activity in patients with rheumatoid arthritis. H. Kanda, K. Yokota, K. Kubo, S. Tateishi, M. Oshima, C. Kohno, K. Yamamoto, T. Mimura. American College of Rheumatology 68<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting, 2004

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

図 ; SLE 患者末梢血 CD14+細胞由来未熟樹状細胞のデキストランに対する endocytosis 能は、健常者由来未熟 DC に比して低下している。



塗り潰し:Control  
太線 :SLE  
細線 :FITC-DX free(Control)

## SLE T 細胞に発現される病態関連分子の探索に関する研究

分担研究者 氏名 竹内 勤 埼玉医科大学総合医療センター リウマチ・膠原病内科 教授

**研究要旨** 全身性エリテマトーデス（SLE）患者における機能不全T細胞の分子機構を解析した。T細胞レセプターと会合し、そのシグナル伝達に重要な役割を果たすTCR $\zeta$ 鎖の発現低下および、それを誘導するスプライス・ウ`ァリアントを明らかにした。このTCR $\zeta$ 鎖スプライス・ウ`ァリアントはEXON7(-)とshort 3' UTRの2つでいずれもmRNAの不安定性を介して蛋白発現低下を来たしていた。Short 3'-UTR型は野生株に比べ560bp短いウ`ァリアントで、mRNA不安定性を来した。責任部位をdeletion mutantを作製して検索したところ、領域736~816が $\zeta$ 鎖発現を規定している事が示された。

一方、両ウ`ァリアントに共通して発現誘導される分子、発現低下される分子をagilenx社マイクロアレイを用いて8691遺伝子を網羅的に検索した所、一部の接着分子や細胞傷害性顆粒が発現亢進される事が明らかとなり、今後治療標的の可能性も含め、更なる検討が必要と考えられた。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）は自己免疫疾患のプロトタイプで、多彩な自己抗体産生と全身所蔵器の組織障害を特徴とする。組織障害には、B細胞の自己抗体産生とそれに引き続く免疫複合体形成やT細胞による標的細胞障害などが関与する。一方、これらのエフェクター活性をコントロールすべき調節性T細胞の機能不全は、病態の上流で重要な役割を演じている。このT細胞機能不全の本態の一つに、早期シグナル伝達分子の機能異常が想定されていた。我々は、TCRからのシグナル伝達で中心的役割を演じているTCR $\zeta$ 鎖の蛋白発現が低下し、そのmRNAに異常が存在する事を明らかにした。特に、SLE患者のみに認められるスプライス・ウ`ァリアントとして、エクソン7（-）ウ`ァリアント、短3'-UTRウ`ァリアントの2種類を報告した。これらスプライス・ウ`ァリアントの生成機序を解明すると共に、どのような機構を介して病態形成に結びついているのかを明らかにすることを目的とする。T細胞機能異常の分子機序が解明されれば、より根本的で、理想的な治療薬の開発も期待でき、診断、分子異常の部位と病態との関連、予後、遺伝性などについて、これまでにない多くの情報を得る事ができる

と期待される。

### B. 研究結果

患者T細胞におけるTCR $\zeta$ 鎖スプライス・ウ`ァリアントの発現：3'非翻訳領域(UTR)を含むエクソン8が正常の910bpに比べ560bp短い、短3'-UTRウ`ァリアントは、SLE患者7例で、short exon8ウ`ァリアントが野生型よりも優位に検出され、特に5例のSLE患者では、野生型が検出不能な程度まで発現低下していた。一方、36bpのエクソン7は、シグナル伝達機能に必須のITAM-3のN末端側チロシン残基を含む機能上重要な部位であるが、このエクソンを欠いたエクソン7(-)ウ`ァリアントは、SLE2例に見いだされた（図1）。

短3'-UTRウ`ァリアントにおけるmRNA不安定性を規定する部位の検索：短3'-UTRウ`ァリアントでは、そのmRNAの安定性が低下することによってTCR $\zeta$ 鎖の蛋白発現低下を来す。このmRNA不安定性を来す責任部位を明らかにするため、deletion mutantを作製し、蛋白発現レベルを比較した。その結果、 $\zeta$ mRNA 3'UTR内の領域736-816が $\zeta$ 鎖発現を、領域936-1001がTCR/CD3複合体発現を規定していると考えられた。とくに領域936-1001には種を超えてヌク

レオチド配列が保存されている conservative region が存在し、SLE 患者 T 細胞における  $\zeta$  鎖発現低下機序を考える上で重要と思われた。

TCR $\zeta$ 鎖スプライス・ヴァリアント遺伝子導入 T 細胞株の樹立：これら TCR $\zeta$ 鎖スプライス・ヴァリアントの蛋白発現低下および T 細胞機能に及ぼす影響を検討するため、レトロウイルスベクターに wild 型あるいはヴァリアント TCR $\zeta$ 鎖遺伝子を組み込み、TCR $\zeta$ 鎖欠損マウス T 細胞ハイブリドーマ MA5.8 にトランスフェクトして細胞株を樹立した。短 3'-UTR 株、エクソン 7(-)株共に、wild TCR $\zeta$ 株に比し、TCR $\zeta$ の表面発現が低下し、同時に CD3 $\epsilon$ 鎖の発現も低下していた。免疫プロットによって蛋白合成を検討したところ、short 3'-UTR 株、エクソン 7(-)株の CD3 $\epsilon$ 鎖は wild 株と同等であることが確認され、CD3 $\epsilon$ 鎖の表面発現低下は TCR $\zeta$ 鎖の産生低下による 2 次的現象と考えられた。アクチノマイシン処理によって TCR $\zeta$ 鎖 mRNA 安定性を検討したところ、short 3'-UTR 株、エクソン 7(-)株では wild 株に比べ mRNA の消腿は明らかで、安定性が低下していることが明らかとなった。一方、CD3 $\epsilon$ 鎖の安定性はヴァリアント株でむしろ亢進し、この安定性低下は TCR $\zeta$ 鎖 mRNA に特異的なものであった。従って、2 種類の異なる TCR $\zeta$ 鎖ヴァリアントの蛋白発現低下は、類似した mRNA 不安定性に起因しているものと考えられた。

マイクロアレイを用いたヴァリアント TCR $\zeta$ 鎖導入 T 細胞株の網羅的遺伝子発現解析：SLE の病態形成において鍵を握る分子を探索するため、スプライス・ヴァリアント TCR $\zeta$ 鎖を遺伝子導入し TCR $\zeta$ 鎖蛋白発現低下を来した 2 つのクローンを用いて、両者に共通する分子異常を網羅的に解析した。agilent 社のマイクロアレイによって 8691 遺伝子の発現解析を行なったところ、短 3'-UTR で 3 倍以上に発現亢進していた遺伝子は 48 (0.6%)で、エクソン 7 (-) では 88 (1.0%)であった。両者に共通して正常の 3 倍以上に発現亢進する分子は、WASP, granzyme A, syndecan-1, TXK などの興味深い遺伝子群であった (表 1)。一方、短 3'-UTR で 1/3 以下に発現低下していた遺伝子は 187 (2.2%)で、エ

クソン 7 (-) では 189 (2.2%)であった。両者に共通して正常の 1/3 倍以下に発現低下する分子は、IL-2, TGF $\beta$ 2 などの種々のサイトカインであった (表 1)。

RT-PCR による確認実験：マイクロアレイの成績を基に、各々の遺伝子について、RT-PCR で確認したところ、表 2 に示すよう、二つのスプライス・ヴァリアントに共通して発現亢進、発現低下する遺伝子群が確認された。表 2 に RT-PCR によって発現亢進が確認された遺伝子を示す。

二つのスプライス・ヴァリアント発現 T 細胞株で発現亢進が確認された遺伝子の蛋白発現レベル：以上のような検討で、スプライス・ヴァリアント導入によって 2 次的に発現変動した遺伝子群が、実際に蛋白レベルの発現変動に反映されているかどうか解析した。免疫プロット法、FACS 解析のいずれによっても、マイクロアレイ、RT-PCR で明らかにされた発現亢進遺伝子である syndecan-1, pvr12, granzyme A の発現亢進が示された。

## C. 結論

長い間分子機序の不明であった SLE において、シグナル伝達分子の機能異常に焦点を当て解析した結果、その中心の一つである TCR $\zeta$ 鎖発現異常の機序の一端が明らかとなった。TCR $\zeta$ 鎖 mRNA スプライスバリエントが発現された T 細胞では TCR $\zeta$  発現低下に伴い、接着分子や細胞傷害性顆粒を含む膜タンパクの発現が亢進していた。この研究で示された異常分子生成機構、あるいは 2 次的発現誘導分子を指標、標的とした発症前診断、原因療法の開発についてさらに追求して行く必要がある。

## D. 健康危機情報

特になし

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tsuzaka K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Shiraishi K, Suzuki K, Abe T, and Takeuchi T. A splice variant of the TCR $\zeta$  mRNA lacking exon7 leads to

the downregulation of the TCR $\zeta$ , TCR/CD3 complex and IL-2 production in systemic lupus erythematosus T cells. *J Immunol* 174:3518-25, 2005.

2. Takeuchi T, Tsuzaka K, Kameda H, and Amano K. Therapeutic targets in misguided T cells in systemic lupus erythematosus. *Current Drug Target* 4: 295-298, 2005.

3. Shiraishi K, Tsuzaka K, Abe T, and Takeuchi T. Critical role of the 5<sup>th</sup> domain of E-cadherin for heterophilic adhesion with  $\alpha E\beta 7$ , but not for homophilic adhesion. *J Immunol* 175:1014-1021, 2005.

4. Takeuchi T, Tsuzaka K, Abe T, Yoshimoto K, Shiraishi K, Kameda H, and Amano K. T cell abnormalities in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 38:339-346, 2005.

5. Tsuzaka K, Nozaki K, Kumazawa C, Shiraishi K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Suzuki K, Abe T, and Takeuchi T. DNA microarray gene expression profile of T cells with splice variants of TCR $\zeta$  mRNA observed in SLE. *J Immunol* 176:949-56, 2006.

## 2. 学会発表

1. Transcriptional analysis of autoimmune diseases. 難治性疾患における自己免疫応答の解明と制御に関する国際シンポジウム 箱根富士屋ホテル 2005.10.27

2. 病態理解の進歩 第33回日本臨床免疫学会総会 シンポジウム オーバービュー 国立京都国際会館 2005.10.29

## F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

図1 Structure of splice variants of TCR $\zeta$  chain

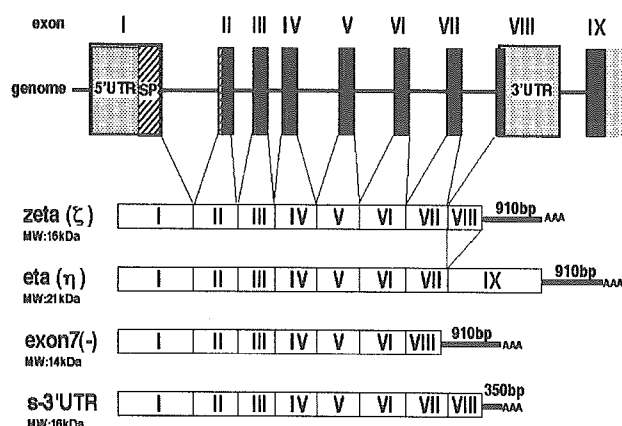
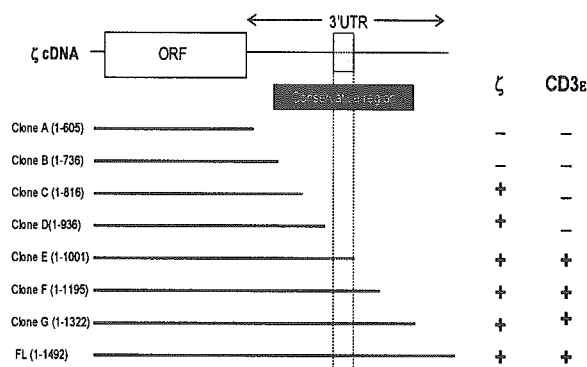


図2 TCR $\zeta$ 蛋白発現に影響を及ぼす3'UTR領域



zeta mRNA 3'UTR内の領域736-816がzeta鎖発現を、領域936-1001がTCR/CD3複合体発現を規定していると考えられた。とくに領域936-1001には種を超えてヌクレオチド配列が保存されているconservative regionが存在し、SLE患者T細胞におけるzeta鎖発現低下機序を考える上で重要と思われる。

表1 List of genes upregulated or downregulated in both transfectants by agilent microarray (8691gene)

表2 RT-PCR: Up-regulated genes in both the AS3' UTR mutant and EX7 (-) mutant

Upregulation		Downregulation	
AS 3'UTR	EX7 (-)	AS 3'UTR	EX7 (-)
48(0.6%)	88(1.0%)	187(2.2%)	189(2.2%)
ratio	Gene Name	ratio	Gene Name
10.65	Wiskott-Aldrich syndrome-like (human)	0.04	small inducible cytokine A9
8.05	glutathione S-transferase, alpha 4	0.04	Interleukin 2
7.10	solute carrier family 4 (anion exchanger), member 8	0.06	small inducible cytokine A4
6.91	ESTs	0.06	guanine nucleotide binding protein, beta 4
6.17	selenium binding protein 1	0.06	ESTs, Weakly similar to S26689 hypothetical protein hc1 - mouse [M.musculus]
5.19	granzyme A	0.07	small inducible cytokine A3
4.75	protein tyrosine phosphatase 4a3	0.09	small inducible cytokine subfamily C, member 1 (lymphotactin)
4.52	transcription factor 7, T-cell	0.10	matrix gamma-carboxyglutamate (gla) protein
3.74	poliovirus receptor-related 2	0.11	casoin kappa
3.67	peroxisomal sarcosine oxidase	0.11	lipin 3
3.29	syndecan 1	0.11	Sfp1/PU.1 interaction partner
3.23	TXK tyrosine kinase	0.11	transforming growth factor, beta 2

Gene Name	Ratio		Gene Name	Ratio	
	(AS3 UTR/WT)	(EX7-/WT)		(AS3 UTR/WT)	(EX7-/WT)
<b>Cell adhesion</b>					
Poliovirus receptor-related 2	3.74	4.93	<b>Lipid transport and metabolism</b>		
Syndecan 1	3.29	3.87	Phosphomannomutase 1	3.73	4.42
<b>Other membranous proteins</b>					
Wiskott-Aldrich syndrome-like (human)	10.65	10.50	Lipocalin 2	3.54	6.69
Solute carrier family 4, member 8	7.10	9.54	Fatty acid desaturase 2	3.04	3.21
<b>Inflammation, chemokines, and cytokines</b>					
Granzyme A	5.19	3.31	<b>Other metabolism</b>		
Matrix metalloproteinase 11	3.09	4.10	Glutathione S-transferase, 4	8.05	4.82
<b>Signal transduction and cell growth</b>					
Protein tyrosine phosphatase 4a3	4.75	3.69	Selenium-binding protein 1	6.17	7.46
<b>Transcription factors and nuclear proteins</b>					
Transcription factor 7					
Max dimerization protein 3					



## 多発性筋炎・皮膚筋炎に合併する間質性肺炎に対するタクロリムスの有用性の検討

分担研究者 高田和生 東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科 助手

**研究要旨** 多発性筋炎（PM）・皮膚筋炎（DM）には間質性肺炎（IP）が高頻度に合併するが、唯一適応承認を持つ副腎皮質ステロイド薬（CS）の有効性は極めて低く予後不良である。そのため臨床の現場では免疫抑制薬に限られたエビデンスに基づき適切な用法用量設定もされないまま適応外で治療開始時より併用されているのが現状である。本疾患の病態には肺胞・間質に多数浸潤しているTリンパ球の強い関与が示唆されており、Tリンパ球特異的免疫抑制薬であるタクロリムスが、その有効性を示唆する報告が蓄積されてきていることなどから新規治療薬候補として注目されており、我々は研究者主導でその開発を進めている。当科のPM・DMに合併するIP症例でタクロリムスが最低4週間以上投与された10例（CSおよび免疫抑制薬抵抗例8例、および初期療法としてCSとともに投与された2例）における臨床効果を評価した。10例全例に救命効果があり、初期治療として投与された2例はともにCT画像・呼吸機能検査値・KL-6値すべてに改善を認めCS漸減が達成された。抵抗例8例のうち、4例はCT画像・KL-6値で改善を認めCS漸減達成または維持、1例は臨床的に安定化、1例は併用するCSの増量後に全評価項目が著明に改善した。一方1例は臨床的安定化の後にCT画像上蜂窩肺所見が緩徐増悪し、1例はCT画像・KL-6値にて若干の増悪を認めている。タクロリムスとの因果関係がありと判断された有害事象は、すべて米国立癌研究所（NCI）によるCTCAE（Common Terminology Criteria for Adverse Events）によるGrade 2以下（Grade 2は血圧上昇2例と振戦1例）であった。従来治療では予後不良な本疾患において、CSや免疫抑制薬に対する抵抗例に対する治療として、そしてCSとの併用による初期治療としてのタクロリムスの有用性が推測され、臨床試験での検証が待たれる。現在我々は、本疾患の初発または安定化後の再発のために治療を必要とする患者を対象とし、生存率を主要評価項目としたタクロリムスおよびCS併用の単群による、GCP準拠施設臨床試験の計画を進めている。

### A. 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎には間質性肺炎が高頻度に合併するが、唯一適応承認を得ている副腎皮質ステロイド薬の有効性は極めて低く、また感染症の合併率も高く、短期死亡率が極めて高く予後不良である。そのため臨床の現場では、シクロスポリンやシクロホスファミドなどの免疫抑制薬が、限られたエビデンスに基づき適切な用法用量設定もされないまま適応外で治療開始時より併用されているのが現状である。本疾患の病態には、肺胞・間質に多数浸潤している活性化Tリンパ球の強い関与が示唆されており、Tリンパ球特異的免疫抑制薬であるタクロリムスの本疾患における有効性を示唆する報告が蓄積されてきており、新規治療薬候補と

して注目されている。しかし不採算性などのため製薬会社主導開発の可能性はなく、従って我々は研究者主導でその開発を進めている。

### B. 研究方法

（1）東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科において、多発性筋炎・皮膚筋炎に合併する間質性肺炎症例に対してタクロリムスが最低4週間以上投与された10例（タクロリムス開始時年齢平均62.7歳、タクロリムス投与前間質性肺炎治療歴平均32.0ヶ月）において、救命効果・臨床反応・安全性の評価を行った。臨床反応の評価には以下の4項目における変動が解析された。

呼吸機能検査:肺活量(%VC)及び肺拡散能

(%DLCO)の変動。

血清マーカー：間質性肺炎病変での再生 II 型肺胞上皮細胞に強く発現しており、間質性肺炎に特異性が高くその活動性も反映するシアル化糖鎖抗原である KL-6 の変動。

画像：高分解能肺 CT 所見の変動。

プレドニゾロン投与量：タクロリムス開始前 1 ヶ月と、開始後 1 ヶ月毎のプレドニゾロン総投与量の変動。

安全性の評価に関しては、入院および外来カルテにおける症状・徴候、検査結果における異常値の検索、そして外来主治医および入院中の担当医への問い合わせにより有害事象を抽出し、おのおのに関するタクロリムスとの因果関係を外来主治医および入院中の担当医の判断に基づき考察、そして重症度を有害事象共通用語規準 v3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版 (CTCAEv3.0 日本語訳) に沿って判定した。

(2) 効能追加申請のためのデータ取得を目的とした GCP 準拠の多施設オープンラベル臨床試験を行うべく、日本医師会治験促進センター (治験推進研究事業採択課題) のサポートを受けながら計画を進めた。

### C. 研究結果

(1) 副腎皮質ステロイド薬および免疫抑制薬抵抗例 8 例、および初期療法として副腎皮質ステロイド薬とともに投与された 2 例における臨床効果を評価した (表 1)。タクロリムスの初期投与量は 0.06~0.08mg/kg/日を目安として決められ (1 日 2 回に分けて投与)、その後は副作用発現率が比較的低いとされる全血中濃度 5~10ng/ml の範囲で、臨床反応および忍容性にもとづき投与量調節が行われた。【救命効果】10 例全例において救命効果があり、全例で外来通院での診療が可能となった。経過観察中、2 例が死亡した。1 例はタクロリムス開始 70 週 (16 ヶ月) 後に痰詰まりによると思われる窒息で死亡し、もう 1 例はタクロリムス開始 148 週 (34 ヶ月) 後に急性呼吸不全で死亡した。【呼吸機能】タクロリムス投与開始前後における同検査値の比較評価は 6 例において行われ、全例でタクロリムス開始後 %VC、%DLCO が改善または

安定化した (図 1)。シクロスポリン投与中に急性増悪を続けた DM に合併する 1 例では、タクロリムスに変更後間質性肺炎の安定化が達成され、当初 6 ヶ月間は %VC、%DLCO ともに改善し、その後高分解能肺 CT において蜂窩織肺領域の拡大と共に両値とも緩徐低下した。【血清 KL-6 値】間質性肺炎の活動性を反映する血清 KL-6 値は 10 症例中 9 例でタクロリムス投与開始後速やかに低下、1 例においては併用するプレドニゾロンを増量しタクロリムスを継続したところタクロリムス投与開始 20 週後より著明に低下した (図 2)。また投与開始後同値が低下した 9 例のうち 1 例では、タクロリムス開始 47 週後より同値の緩徐上昇を認めているが、症状および高分解能肺 CT では著変を認めていない。【高分解能肺 CT】7 例で改善し、1 例で安定化した一方、1 例では投与開始 4 週後の CT では放射線透過性減弱領域の若干の拡大を認め、1 例ではタクロリムス投与開始直後は安定化を見たが 40 週以降蜂窩肺領域の緩徐拡大を認めた。【プレドニゾロン投与量】KL-6 値上昇が続いたために 2 ヶ月後に投与量が増量された 1 例以外では全例において減量達成または必要最低限の維持量が継続された (図 3)。【安全性】経過観察中 2 症例が死亡したが、いずれもタクロリムス投与開始後臨床的に安定または改善を示した。1 例はタクロリムス開始 70 週 (16 ヶ月) 後に痰詰まりによると思われる窒息で死亡し、もう 1 例はタクロリムス開始 148 週 (34 ヶ月) 後に急性呼吸不全で死亡した。後者では急性呼吸不全の原因として、安定期にあった間質性肺炎の急性増悪の可能性も否定できないと判断された。タクロリムス投与中に発症した感染症を、考察されたタクロリムスとの因果関係にかかわらず表 2 にまとめた。いずれも抗菌薬あるいは抗ウイルス薬投与により治癒した。感染症以外の有害事象のうち、タクロリムスとの因果関係が「おそらくあり」または「明らかにあり」と考察された事象を表 3 にまとめた。血清クレアチニン値上昇はタクロリムス投与量減量または自然経過にて改善、その他については無処置あるいは対症療法によりタクロリムスの継続が可能な程度であった。DM による

嚥下障害および痴呆のため誤嚥性肺炎を繰り返した1例では、胃瘻造設が適切と考えられたが、家族は誤嚥性肺炎の危険を認識した上で経口摂取を希望し、結果誤嚥性肺炎を複数回合併した。高分解能肺CTにおいても経過観察中蜂窩肺領域が徐々に拡大し、予想されうるタクロリムスの間質性肺炎に対する臨床効果と更なる誤嚥性肺炎のリスクに対するタクロリムスの影響を考慮し、投与開始84週(19ヵ月)後タクロリムス投与は中止された。その他に、タクロリムスとの因果関係がありと考察された有害事象のためにタクロリムス投与が中止された症例はなかった。

(2) 本疾患の初発または安定化後の再発のために治療を必要とする患者を対象とし、生存率を主要評価項目としたタクロリムス(基準開始用量として0.075mg/kg/日、血中濃度5~20ng/mLの範囲で投与量調節可)および副腎皮質ステロイド薬(プレドニゾン1mg/kg/日で開始後漸減)併用の単群によるオープンラベル臨床試験(目標解析対象例20例、評価観察期間40週)の計画を進めている。2005年6月に医薬品医療機器総合機構より優先対面助言品目指定を受けており、2006年3月に同機構による対面助言を予定、その後2006年夏頃の治験届け提出・被験者登録開始を目標に計画を進めている。

#### D. 考察

本臨床データは比較試験より得られたものではないため、有効性・安全性に関して既存治療法である副腎皮質ステロイド薬との直接比較はできないが、タクロリムスは副腎皮質ステロイド薬のみで治療が困難な全症例を救命し、病勢の安定化・改善をもたらし、患者負担を軽減した。更に安全性の面でも、副腎皮質ステロイド薬に見られる重篤感染症などは認められず、またそれ以外の副作用も頻度も低く、重篤度も低いものであった。従って、タクロリムスは副腎皮質ステロイド薬に比して、有効性および安全性において優れていると推定される。

また、10例のうち7例がシクロスポリン(少なくとも6週間以上投与)に対して抵抗性であ

ったにも関わらずタクロリムスに対して良好な反応を示している。シクロスポリンの本疾患に対する有用性を示唆する後ろ向き解析報告が存在することから、タクロリムスのシクロスポリンに対する優越性も示唆される。

#### E. 結論

従来治療では予後不良な本疾患において、副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬に対する抵抗例に対する治療として、そして副腎皮質ステロイド薬との併用による初期治療としてのタクロリムスの有用性を示唆する所見であり、計画を進めているGCP準拠施設臨床試験にての有用性の検証が待たれる。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takada, K., K. Nagasaka, N. Miyasaka, "Polymyositis/Dermatomyositis and interstitial lung disease; A new therapeutic approach with T-cell-specific immunosuppressants" *Autoimmunity*, 38(5): 383-92, 2005.

##### 2. 学会発表

1. Takada, K., N. Miyasaka, "Benefit of adding immunosuppressive drugs to corticosteroid very early in the treatment of interstitial lung disease in polymyositis/dermatomyositis: implication for clinical trial designing for immunosuppressive drugs". *American College of Rheumatology 69<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting*, November 2005. *Arthritis Rheum*, 52(9): S315, 2005

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

添付資料 5

表 1 タクロリムス投与症例 (n=10) の患者背景

	年齢 <sup>*</sup> /性別	原病	IP 発症 <sup>†</sup> (月)	タクロリムス開始前		タクロリムス開始時			タクロリムス治療
				IP 罹病 期間 <sup>‡</sup> (月)	IP 治療	プレドニゾン 投与量 (mg/日)	タクロリムス 投与量 (mg/日)	KL-6 値 (U/ml)	治療期間 (月)
症例 1	69/女性	DM	4	8	PSL/CyA/CYC	25	5	1680	40
症例 2	58/女性	PM	18	26	CyA/CYC	12.5	3	1260	34
症例 3	58/女性	DM	0	23	PSL/CyA/CYC	10	4	1210	27
症例 4	67/男性	DM	4	2	CyA	15	3	1030	19
症例 5	64/女性	DM	3	97	PSL/CyA/CYC	7	3	669	16
症例 6	65/女性	DM	-2 (IP 先行)	6	PSL/CyA	45	3	2590	15
症例 7	71/女性	DM	0	6	-	50	3	2260	4
症例 8	46/女性	DM	0	4	-	45	2	573	3
症例 9	63/女性	DM	5	146	PSL/CyA/CYC	30	2	1670	2
症例 10	62/女性	DM	1	3	PSL	30	2	1590	2

\* タクロリムス開始時年齢

†DM・PM 発症後、治療を必要とする IP 発症までの期間

‡治療を必要とする IP 発症後、タクロリムス投与開始までの期間

PM:多発性筋炎、DM:皮膚筋炎、IP:間質性肺炎、PSL:プレドニゾン大量療法、CyA:シクロスポリン、CYC:シクロホスファミド

表 2 タクロリムス投与中に発症した感染症

感染症	数	重症度*	症例	詳細
ウイルス性上気道炎	2	Grade 2	症例 6, 9	
帯状疱疹	1	Grade 2	症例 7	初期治療としてタクロリムスおよびプレドニゾン大量療法開始後、プレドニゾン漸減中(30mg/日の時点)に発症した、片側単神経根領域に局限した帯状疱疹
蜂窩織炎	1	Grade 3	症例 4	DM による難治性皮膚潰瘍があり、同部の不潔管理による蜂窩織炎
骨髄炎	1	Grade 3	症例 4	DM による、肘関節伸側の骨まで達する難治性潰瘍に合併した骨髄炎
感染性静脈炎	1	Grade 3	症例 5	末梢静脈ライン挿入部位の不潔管理による静脈炎
誤嚥性肺炎	1	Grade 3	症例 5	DM による嚥下障害あり
	5	Grade 3	症例 4	DM による嚥下障害および痴呆のため誤嚥性肺炎の危険が大きく、胃瘻造設が適切と考えられたが、家族が誤嚥性肺炎の危険を認識した上で経口摂取を希望し、誤嚥性肺炎を複数回合併

\*有害事象共通用語規準 v3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版 (CTCAEv3.0 日本語訳)<sup>7</sup>に沿って判定

表 3 タクロリムス投与中に発症し、タクロリムスとの因果関係が「おそらくあり」または「明らかにあり」と考察された、感染症以外の有害事象

有害事象	数	重症度*	症例	詳細
頭痛	1	Grade 1	症例 9	投与量変更なく経過観察にて軽快
血清クレアチニン値上昇	3	Grade 1	症例 2, 4, 6	投与量減量または変更なく経過観察にて改善
耐糖能異常	1	Grade 1	症例 2	経口血糖降下薬単剤追加にて改善
高血圧	2	Grade 2	症例 2, 7	降圧薬増量または単剤追加にて改善
振戦	1	Grade 2	症例 7	投与量変更なく経過観察にて改善

\*有害事象共通用語規準 v3.0 日本語訳 JCOG/JSCO 版 (CTCAEv3.0 日本語訳)<sup>7</sup>に沿って判定