

201024029A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

強皮症における病因解明と根治的治療法の開発

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐藤 伸一

平成23年（2011年）3月

**厚生労働科学研究費補助金**

**難治性疾患克服研究事業**

**強皮症における病因解明と根治的治療法の開発**

**平成22年度 総括・分担研究報告書**

**研究代表者 佐藤 伸一**

**平成23年（2011年）3月**

## 【目次】

### 班員名簿

#### I. 総括研究報告

- 強皮症における病因解明と根治的治療法の開発…………… 1  
研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）

#### II. 分担研究報告

1. 強皮症早期症例の長期経過観察—中間報告—…………… 5  
研究協力者 長谷川稔（金沢大学医学部附属病院皮膚科）  
研究分担者 浅野善英, 石川 治, 尹 浩信, 遠藤平仁, 小川文秀,  
川口鎮司, 桑名正隆, 住田孝之, 高橋裕樹, 田中住明, 藤本 学  
協力者 後藤大輔, 佐々木哲雄, 室 慶直, 竹原和彦  
研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）
2. びまん型全身性強皮症に対する IVIG の二重盲検比較試験…………… 13  
研究分担者 竹原和彦（金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学）  
研究分担者 尹 浩信  
研究代表者 佐藤伸一
3. 皮膚硬化が急速に進行する全身性強皮症に対するシクロホスファミド  
大量静注療法の有効性と安全性…………… 25  
研究分担者 川口鎮司（東京女子医科大学附属病院膠原病リウマチ痛風センター）  
協力者 西間木江美, 高木香恵, 深澤千賀子, 栃本明子, 大田ゆう子
4. 全身性強皮症の皮膚硬化に対するシクロホスファミド投与例の検討…………… 29  
研究分担者 尹 浩信（熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学）  
協力者 牧野雄成, 神人正寿, 梶原一亨, 牧野貴充
5. 強皮症に伴う間質性肺疾患に対する経口シクロホスファミド療法…………… 34  
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部リウマチ内科）  
協力者 安岡秀剛
6. 全身性強皮症に対するシルデナフィル有効性…………… 40  
研究分担者 川口鎮司（東京女子医科大学附属病院膠原病リウマチ痛風センター）  
協力者 片岡さゆり, 高木香恵, 深澤千賀子, 栃本明子, 大田ゆう子
7. 汎発性強皮症に伴う難治性皮膚潰瘍に対する当科でのボセンタン使用経験…………… 43  
研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）  
研究分担者 浅野善英  
協力者 谷口隆志, 市村洋平, 高橋岳浩, 遠山哲夫, 杉田美樹,  
青笹尚彦, 赤股要, 川嶋智彦, 富田学, 玉城善史郎,  
宮寄美幾, 波多野将

8. プレオマイシン誘導強皮症モデルマウスを用いたボセンタン（トラクリア®）の皮膚硬化抑制の効果についての検討…………… 48  
 研究分担者 山本利幸（福島県立医科大学皮膚科）  
 協力者 尾山徳孝，若槻妙子，岡田智子，渡邊純子  
 研究代表者 佐藤伸一
9. エダラボンは Tight-skin（TSK）マウスおよびプレオマイシン（BLM）誘発強皮症マウスモデルにおける線維化と自己免疫異常を改善する…………… 54  
 研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）  
 研究分担者 小川文秀  
 研究分担者 浅野善英  
 研究分担者 石川 治  
 協力者 吉崎 歩，築場広一，吉崎麻子，永井弥生，長谷川道子
10. プレオマイシン誘発肺臓炎モデルにおける抗 CD20 抗体療法の効果についての検討…………… 66  
 研究分担者 藤本 学（金沢大学医薬保健研究域医学系）  
 協力者 濱口儒人  
 研究協力者 長谷川稔  
 協力者 竹原和彦  
 研究代表者 佐藤伸一
11. 強皮症における血管内皮前駆細胞の *in vivo* 血管形成能の検討…………… 71  
 研究分担者 桑名正隆（慶応義塾大学医学部リウマチ内科）
12. IL-2/18 誘導間質性肺炎モデルマウスにおける NK1.1 陽性  $\gamma\delta$  T 細胞の機能解析…………… 76  
 研究分担者 住田孝之（筑波大学大学院 人間総合科学研究科  
 疾患制御医学専攻 臨床免疫学 教授）  
 協力者 瀬川誠司  
 協力者 吉賀洋平  
 協力者 堀越正信  
 協力者 後藤大輔  
 協力者 松本 功
13. 全身性強皮症患者における制御性 B 細胞の解析…………… 82  
 研究分担者 藤本 学（金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科）  
 協力者 松下貴史（金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学）  
 研究協力者 長谷川稔（金沢大学医学部附属病院皮膚科）  
 協力者 竹原和彦（金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学）  
 研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）
14. 強皮症の皮膚線維化における IL-17 signaling の関与…………… 87  
 研究分担者 尹 浩信（熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学）  
 協力者 中嶋泰治

15. CCL13は全身性強皮症の診断に有用な血清学的マーカーである…………… 95  
 研究代表者 佐藤伸一（東京大学医学部附属病院皮膚科）  
 協力者 薬場広一
16. 全身性強皮症患者における血清中 secretory leukocyte protease inhibitor 濃度の臨床的意義…………… 99  
 研究分担者 浅野善英（東京大学医学部附属病院皮膚科）  
 協力者 青笹尚彦, 赤股 要, 玉城善史郎  
 研究代表者 佐藤伸一
17. CTGF 長期サイレンシングによる全身性強皮症由来真皮線維芽細胞への影響…………… 104  
 研究分担者 石川 治 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学  
 協力者 横山洋子, 安部正敏  
 研究代表者 佐藤伸一
18. 全身性強皮症の病態における Thrombospondin-2 (TSP-2) の関与の検討…………… 110  
 研究分担者 尹 浩信（熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学）  
 協力者 梶原一亨, 神人正寿, 本多教稔, 牧野貴充, 岡本芳伸,  
 長谷川稔, 藤本 学
19. 転写因子 Fli1 が I 型コラーゲン遺伝子の転写抑制因子として機能するメカニズム…………… 118  
 研究分担者 浅野善英（東京大学医学部附属病院皮膚科）  
 協力者 Maria Trojanowska Division of Rheumatology and Immunology,  
 Medical University of South Carolina, Professor
20. 転写因子 Fli1 によるエストロゲン受容体 ER $\alpha$  の発現調節…………… 127  
 研究分担者 石川 治（群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学）  
 協力者 服部友保, Maria Trojanowska Boston University School of Medicine,  
 Arthritis Center, Prof.  
 研究代表者 佐藤伸一
21. 腎性全身性線維症の石灰化形成機序の検討…………… 132  
 研究分担者 石川 治 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学  
 協力者 岡田悦子, 山中正義
22. 肺動脈性肺高血圧症に対する Imatinib mesylate の効果…………… 136  
 研究分担者 波多野将（東京大学医学部附属病院循環器内科）  
 研究分担者 浅野善英  
 協力者 八尾厚史, 絹川弘一郎, 平田恭信, 永井良三, 玉城善史郎, 川嶋智彦  
 研究代表者 佐藤伸一

23. 汎発性強皮症における % FMD 値と臨床症状および各種検査値との相関に関する検討	142
研究代表者	佐藤伸一 (東京大学医学部附属病院皮膚科)
研究分担者	浅野善英
協力者	高橋岳浩, 市村洋平, 遠山哲夫, 谷口隆志, 青笹尚彦, 赤股要, 川嶋智彦, 富田学, 玉城善史郎, 網谷英介, 中尾倫子, 大関敦子, 渡邊綾, 河原崎秀一, 波多野将, 渡辺昌文
24. SSc 合併肺高血圧症の治療成績についての研究	146
研究分担者	田中住明 (北里大学医学部 膠原病感染内科学)
協力者	星健太
25. ボセンタンの副作用発現の risk factor の検討	151
研究分担者	尹浩信 (熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学)
協力者	牧野貴充, 神人正寿, 福島聡, 増口信一
26. ボセンタン内服中に腹水貯留を認めた全身性強皮症の 2 例	156
研究分担者	藤本学 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科)
協力者	岡本芳伸, 濱口儒人
研究協力者	長谷川稔
協力者	竹原和彦
研究代表者	佐藤伸一
27. 強皮症合併心筋障害への対応と治療に関する検討	160
分担研究者	遠藤平仁 (東邦大学医療センター大森病院膠原病科)
協力者	村岡成, 楠芳恵, 川合眞一
28. 13-C 酢酸呼気試験を用いた全身性強皮症腸管病変の評価と治療効果の判定	165
研究分担者	遠藤平仁 (東邦大学医療センター大森病院膠原病科)
協力者	山本竜大, 瓜田純久, 川合眞一
29. 強皮症に伴う逆流食道炎 (GERD) に対する六君子湯の使用経験	169
研究分担者	石川治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者	長谷川道子, 永井弥生
30. 全身性強皮症における血清 IgG4 値の検討	173
研究分担者	高橋裕樹 (札幌医科大学医学部第一内科)
協力者	山本元久, 鈴木知佐子
31. BLK を含む 8p23.1 領域における複数の全身性強皮症関連遺伝子多型の存在	178
研究協力者	土屋尚之 (筑波大学大学院人間総合科学研究科)
協力者	伊東郁恵, 古川 宏
研究協力者	長谷川稔
研究分担者	藤本 学
協力者	竹原和彦
協力者	當間重人
研究代表者	佐藤伸一

32. 金沢大学皮膚科における全身性強皮症男性例の解析……………	185
研究分担者	藤本 学 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科)
研究協力者	長谷川稔
協力者	和薬孝昌, 松下貴史, 竹原和彦
研究代表者	佐藤伸一
33. 全身性強皮症の顔に対するリハビリテーション—第2報—……………	191
研究協力者	麦井直樹 (金沢大学附属病院リハビリテーション部)
研究協力者	長谷川稔
研究分担者	藤本 学
協力者	八幡徹太郎, 染矢富士子, 堀江 翔
研究代表者	佐藤伸一
協力者	竹原和彦
34. R-CHOP 療法により皮膚硬化と間質性肺炎の改善を認めた 全身性強皮症の1例……………	199
研究分担者	高橋裕樹 (札幌医科大学医学部第一内科)
協力者	石田禎夫, 山本元久, 鈴木知佐子, 田邊谷徹也
35. Systemic sclerosis に合併した morphea guttata か?……………	204
研究分担者	山本俊幸 (福島県立医科大学医学部皮膚科)
協力者	奥謙太郎, 菊池信之
36. 前腕屈側優位の強い皮膚硬化と上腕に結節性病変を認めた全身性強皮症の1例……………	207
研究分担者	山本俊幸 (福島県立医科大学医学部皮膚科)
協力者	白石貴久
37. 全身性強皮症を呈したヒトアジュバント病の1例……………	210
研究分担者	石川 治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者	宇田川麻衣, 永井弥生, 田子修, 平井伸幸
38. 全身性強皮症における血中 total antioxidant power (TAP) の臨床的意義……………	216
研究分担者	小川文秀 長崎大学病院皮膚科・アレルギー科
協力者	吉崎 歩
研究代表者	佐藤伸一
III. 研究成果の刊行に関する一覧表……………	221

強皮症における病因解明と根治的治療法の開発班  
班員名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	佐藤 伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科	教授
研究分担者	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学	教授
	尹 浩信	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学	教授
	住田 孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾病制御医学専攻臨床免疫学	教授
	山本 俊幸	福島県立医科大学医学部皮膚科	教授
	遠藤 平仁	東邦大学医療センター大森病院膠原病科	准教授
	川口 鎮司	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター	准教授
	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部リウマチ内科	准教授
	高橋 裕樹	札幌医科大学第一内科	准教授
	藤本 学	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科	准教授
	小川 文秀	長崎大学病院皮膚科・アレルギー科	講師
	浅野 善英	東京大学医学部附属病院皮膚科	講師
研究協力者	土屋 尚之	筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻	教授
	長谷川 稔	金沢大学医学部附属病院皮膚科	講師
	田中 住明	北里大学医学部膠原病・感染内科学	講師
	波多野 将	東京大学医学部附属病院循環器内科	助教
	小寺 雅也	社会保険中京病院皮膚科	医長
	麦井 直樹	金沢大学附属病院リハビリテーション部	作業療法士



# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

強皮症における病因解明と根治的治療法の開発

研究代表者	佐藤伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科 教授
研究分担者	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授
研究分担者	尹 浩信	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学 教授
研究分担者	住田孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾病制御医学専臨床免疫学 教授
研究分担者	山本俊幸	福島県立医科大学医学部皮膚科 教授
研究分担者	遠藤平仁	東邦大学医療センター大森病院膠原病科 准教授
研究分担者	川口鎮司	東京女子医科大学附属病院膠原病リウマチ痛風センター 准教授
研究分担者	桑名正隆	慶応義塾大学医学部リウマチ内科 准教授
研究分担者	高橋裕樹	札幌医科大学医学部第一内科 准教授
研究分担者	藤本 学	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科 准教授
研究分担者	小川文秀	長崎大学病院皮膚科・アレルギー科 講師
研究分担者	浅野善英	東京大学医学部附属病院皮膚科 講師

## A. 研究目的

全身性強皮症（systemic sclerosis; SSc）は皮膚および肺、腎、消化管、心をはじめとする内臓諸臓器を系統的に侵す慢性疾患であり、膠原病に分類される。SScは1）膠原線維の増生（皮膚硬化、肺線維症）、2）血管病変（レイノー症状、指尖部虫喰状瘡痕・潰瘍、肺高血圧症、強皮症腎クリーゼ）、3）自己免疫（自己抗体）といった3つの病態よりなる。

膠原線維の増生については、線維芽細胞の内在的な機能異常によってコラーゲン産生が増加するという仮説や、皮膚に浸潤するT細胞がサイトカインを産生し、それが線維芽細胞を刺激してコラーゲン産生を増加させるといった仮説が提唱されている。しかし、血管病変がどのような機序で起こるのか、さらに血管病変と膠原線維の増生の間にはどのような因果関係が存在するのか、自己免疫は膠原線維の増

加や血管病変とどのように関係するのか、などについては未だ不明といわざるを得ない。従って、現時点ではこの3つの病態を統一的に説明しうる一元化された病態仮説は見いだされていない。また、治療に関しても、様々な薬剤がSScに対して試みられてはいるものの、未だ根治的治療たり得るものは見いだされていないのが現状である。

本研究では、実績のある本邦のSScの専門家を過不足なく集め研究チームを編成することによって、SScの病因解明、そして根治的治療法の開発に向けた研究を計画した。

## B. 研究方法と研究結果

### 1. 基礎研究—病因・病態解明プロジェクト

#### (1) 自己免疫と免疫学的異常

近年制御性B細胞と呼ばれる免疫反応を抑制する

新しいB細胞サブセットが同定された。SScでは従来よりCD19発現異常を中心としたB細胞異常が指摘されており、今回は末梢血液中の制御性B細胞についてフローサイトメトリー法を用いて解析を行った。また、B細胞関連キナーゼであるBlkの近傍に位置するC8orf12の遺伝子多型について、SScとの関連を包括的に検討した。

#### (2) コラーゲン産生亢進を誘導する線維芽細胞異常

SSc由来線維芽細胞におけるIL-17受容体発現および細胞外マトリックス発現に対するIL-17の影響について、PCRアレイなどを用いて解析した。また、SSc由来線維芽細胞に結合組織増殖因子(CTGF) siRNAを複数回導入し、長期サイレンシングによるCTGFの影響を検討した。さらに、転写因子FlilがI型コラーゲン遺伝子の転写抑制因子として機能する分子メカニズムを検討した。

#### (3) SScにおける血管異常

免疫不全マウスに同系腫瘍細胞とともにSScおよび健常人由来の血管内皮前駆細胞(EPC)を移植し、EPCによるin vivoでの血管形成能を評価した。

#### (4) SSc動物モデルを用いた薬剤の有効性のスクリーニング

ブレオマイシン誘導性SScモデル、tight-skin(TSK)マウスを用いて、エダラボンの有効性についてスクリーニングを行った。また、ブレオマイシン肺臓炎モデルを用いて抗CD20抗体によるB細胞除去療法の有効性について解析した。

## 2. 臨床研究

(1) 既存の治療薬で、本症に有効と考えられる以下の薬剤について有効性を検証した：①皮膚硬化に対するシクロホスファミドパルス療法の有効性、②間質性肺炎に対するシクロホスファミド内服の有効性、③肺高血圧症および皮膚潰瘍に対する、シルデナフ

イルの有効性、④ボセンタンの皮膚潰瘍に対する有効性および有効性を示す患者の臨床的特徴の同定。

(2) SScの病態や臨床症状と相関する血清マーカーを同定するために、血清Secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)値をELISA法にて測定し、各種臨床症状との関連性を解析した。

(3) SScに合併する肺高血圧症の血行動態の特徴およびSScに伴う心筋障害について解析した。

(4) びまん皮膚硬化型SSc患者に対し、免疫グロブリン大量静注療法(IVIG)あるいはプラセボを静脈内投与した多施設共同無作為化二重盲検並行群間比較試験の結果を解析した。

#### (倫理面への配慮)

遺伝子研究、臨床データの集積、実験的治療などに当たっては、各施設の倫理委員会で承認を得た後、患者への十分なインフォームドコンセントの元に行った。また、動物実験に当たっては、各施設の承認を得るとともに、快適な環境下での飼育や安楽死に十分配慮した。

## C. 結論

### 1. 基礎研究—病因・病態解明プロジェクト

#### (1) 自己免疫と免疫学的異常

制御性B細胞はIL-10産生を介して過剰な免疫反応や炎症を抑制する。これまでは自己免疫疾患モデルマウスを用いて制御性B細胞の機能解析が進められてきたが、最近ヒトで制御性B細胞を測定する方法が開発された。今回、SSc患者と健常人の末梢血中の制御性B細胞を測定したところ、SSc患者では制御性B細胞が有意に減少していた。以上より、制御性B細胞の異常がSScの病態に関与している可能性が示唆された(藤本)。

ヨーロッパ系集団ではBlk近傍に位置する

C8orf12について全身性エリテマトーデスとの関連が報告されていることから、本領域とSScとの関連を包括的に検討したところ、C8orf12上流に位置する偽遺伝子TDH内のSNP s10503421において、rs13277113とは独立の有意な関連が検出された( $P=3.6 \times 10^{-4}$ 、オッズ比1.85)。この結果、8p23.1には、複数のSSc関連多型が存在することが示唆された(土屋)。

#### (2) コラーゲン産生亢進を誘導する線維芽細胞異常

SSc患者において血清IL-17AおよびIL-17F値をELISA法にて測定したところ、血清IL-17A値のみ患者群において上昇していた。一方、SSc由来皮膚線維芽細胞におけるIL-17受容体の発現は低下していた。さらに、IL-17は線維芽細胞によるコラーゲン産生を抑制する働きを有していることを明らかにした。以上より、SSc由来線維芽細胞では、IL-17受容体発現低下のため、このIL-17による抗線維化作用が減弱していることが、線維化と関連している可能性が考えられた(尹)。

健常人およびSSc患者由来の真皮線維芽細胞にCTGF siRNAを導入し、長期サイレンシングによるCTGFの影響を検討したところ、いずれの線維芽細胞もCTGFノックダウンによりコントロールに比べ細胞増殖は抑制されたが、SSc由来線維芽細胞でより顕著であった。従って、SSc由来線維芽細胞の増殖におけるCTGFの関与が明らかとなった(石川)。

転写因子Fli1は皮膚線維芽細胞において、I型コラーゲン遺伝子の強力な転写抑制因子として機能している。今回、Fli1が転写抑制因子として作用する機序として、Fli1がHADC1と相互作用し、p300によるヒストンのアセチル化を阻害することによってコラーゲン遺伝子の転写活性を抑制していることを

明らかにした(浅野)。

#### (3) SScにおける血管異常

SSc由来EPCの移植により、免疫不全マウスに形成された腫瘍塊は健常人由来EPC移植に比べて小さく、腫瘍内の新生血管数も有意に少なかった。また、血管壁へのSSc由来EPCの取り込みも障害されていた。以上より、SSc由来EPCは血管形成能が低く、その機序の一つとして脈管形成不全が考えられた(桑名)。

#### (4) SSc動物モデルを用いた薬剤の有効性のスクリーニング

エダラボンは我が国で開発された世界で唯一の活性酸素除去薬である。SScにおいて活性酸素は線維化や自己免疫に重要な役割を果たしていると考えられており、新規治療ターゲットとなり得ることが示唆されている。今回SScマウスモデルにおけるエダラボンの効果を検討した。エダラボン投与群では、TSKマウスおよびブレオマイシン誘発SScモデルマウスにおいて線維化および自己免疫が抑制されていた。従って、エダラボンはSScの治療薬として有効である可能性が示唆された(佐藤)。

ブレオマイシン誘発肺線維症モデルに抗CD20抗体を投与し、B細胞除去療法が肺線維化に及ぼす影響について検討した。抗CD20抗体によりB細胞を予め除去したマウスにブレオマイシンを投与すると、コントロール抗体を投与したマウスと比較し誘発された線維化は増悪していた。一方、ブレオマイシン投与後にB細胞を除去すると、線維化は減弱していた。ブレオマイシン誘発肺線維症モデルにおいて、B細胞の役割は局面によって異なっている可能性が示唆された(藤本)。

## 2. 臨床研究

昨年度に引き続き、エンドセリン受容体拮抗薬で

あるボセンタンが、皮膚潰瘍を改善することを示す報告がなされたが、ボセンタンが有効な症例の特徴として、潰瘍周囲にチアノーゼを伴っていることが明らかとなった（浅野）。また、シクロホスファミドパルス療法が急速に進行する皮膚硬化に有効であることが示された（川口、尹）。さらに、シクロホスファミド内服が、HRCT 上線維化、拘束性換気障害（%VC50-85%）を呈する間質性肺炎に対して有効であることも確認された（桑名）。シルデナフィルが、早期の肺高血圧症および難治性指尖部潰瘍に有用であることが示唆された（川口）

臨床症状と相関する血清マーカーの同定に関して、血清 SLPI 値は肺線維症の活動性と相関していることが明らかにされた。現在利用できる肺線維症のマーカーである KL-6 や SP-D と併せて測定することによって、肺線維症発症の予測マーカーや活動性マーカーとなり得ることが示された（浅野）。

SSc に伴う肺高血圧症に対して、右心カテーテルを行い、その血行動態の特徴について検討したところ、SSc 以外の疾患に伴う肺高血圧症あるいは原発性肺高血圧症に比べて有意に肺動脈圧及び 1 回拍出係数が低かった。よって、SSc に伴う肺高血圧症では肺動脈圧が比較的低い段階から心拍出量の低下が起こることが示唆された（波多野）。

SSc に合併した心筋障害について検討したところ、心筋障害は平均罹病期間 6 年で診断され 45% の症例は心嚢液の貯留が認められた。心筋シンチ陽性率は 65% であった。45% は発症後 3 年で死亡しており予後不良であった（遠藤）。

多施設共同無作為化二重盲検並行群間比較試験にて、スキンスコア 20 点以上のびまん皮膚硬化型 SSc 患者に対し、IVIg あるいはプラセボを静脈内投与し、投与 12 週後又は中止時のスキンスコア変化量を主要評価項目として比較した。本登録時と投与開始 12 週後又は中止時のスキンスコアの変化量は、IVIg 群では  $-3.3 \pm 4.2$ 、プラセボ群では  $-4.2 \pm 4.6$  であり、両群間に有意差は認められなかった（佐藤）。

## D. 結 論

基礎研究では、制御性 B 細胞の異常、Blk の遺伝子多型の同定、Flil が I 型コラーゲン遺伝子の強力な転写抑制因子として作用する分子メカニズムの解明、SSc 由来線維芽細胞における IL-17 シグナルの異常、SSc 由来 EPC の脈管形成不全などが主な進歩であった。さらに、動物モデルを用いて、エダラボンが治療のターゲットとなりうることを明らかにした。

臨床研究では、皮膚潰瘍に対するエンドセリン受容体拮抗薬の有用性、皮膚硬化および肺線維症に対するシクロホスファミドの有用性、肺高血圧症および皮膚硬化に対するシルデナフィルの有用性が示唆された。また、SSc に伴う肺高血圧症や心筋障害の特徴についても明らかにされ、進歩が見られた。

IVIg の有効性を検討する二重盲検比較試験にて、IVIg の有効性を明らかにすることはできなかったものの、本邦では初の二重盲検試験を施行しえたことは意義深いと考えられた。

## Ⅱ. 分担研究報告

## 強皮症早期重症例の長期経過観察

### —中間報告—

研究協力者	長谷川稔	金沢大学医学部附属病院皮膚科 講師
研究分担者	浅野善英	東京大学医学部附属病院皮膚科 講師
研究分担者	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授
研究分担者	尹 浩信	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚科病態治療再建学 教授
研究分担者	遠藤平仁	東邦大学医療センター大森病院リウマチ膠原病センター 准教授
研究分担者	小川文秀	長崎大学病院皮膚科・アレルギー科 講師
研究分担者	川口鎮司	東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 准教授
研究分担者	桑名正隆	慶応義塾大学医学部リウマチ内科 准教授
研究分担者	住田孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾病制御医学専攻臨床免疫学 教授
研究分担者	高橋裕樹	札幌医科大学医学部第一内科臨床免疫学 准教授
研究分担者	田中住明	北里大学病院 膠原病・リウマチ・感染内科 講師
研究分担者	藤本 学	金沢大学医薬保健研究域医学系血管新生・結合組織代謝学(皮膚科) 准教授
協力者	後藤大輔	茨城県立中央病院膠原病リウマチ科 准教授
協力者	佐々木哲雄	国際医療福祉大学附属熱海病院皮膚科 教授
協力者	室 慶直	名古屋大学大学院医学系研究科皮膚結合組織病態学 准教授
協力者	竹原和彦	金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授
研究代表者	佐藤伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科 教授

### 研究要旨

厚生労働省の強皮症研究班と強皮症研究の有志らにより成る強皮症研究会議では、本邦における全身性強皮症(SSc)、特に臨床上問題となる発症早期の重症例の経過を把握し、病勢や予後の指標となるマーカーを明らかにするために、多施設患者登録システムによる調査を2002年1月より開始している。初回登録時から、1年ごとに臨床所見の登録と血清の採取を行った。血清を用いてのマーカーの検討は次回以降に行うこととし、今回はまず3年後まで経過を追えた87例に関して、臨床症状や検査所見の経過を解析した。他に6例が3年以内に死亡していた(2例は心筋症、4例は合併症)。初回登録時において、女性が74%、平均年齢は47歳、平均罹病期間は28ヶ月であった。抗トポイソメラーゼI抗体陽性者が64.5%、平均のmodified Rodnan total skin thickness score(MRSS)は18点、間質性肺炎を有する症例は69.4%で、平均の%VCは94.6であった。MRSSは初回登録から1年後までに最も減少傾向がみられ、その後は3年後までゆっくりと減少傾向がみられた。%VCは3年後まで大きな変動はみられなかった。3年後のMRSSを規定する因子を重回帰分析で調べたところ、初回登録時のデータのうち、MRSSや男性例と正の相関を示し、ステロイド内服ありで低下の傾向を示した。一方、3年後の%VCは、初回登録時データの中で%DLcoと正の相関、pitting scarありで低下の傾向を示した。日本人強皮症における、皮膚硬化や間質性肺炎悪化の予測因子が抽出されたが、今後さらに症例や追跡期間を延ばして確認する必要があると思われる。

## A. 研究目的

全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc) は皮膚および内臓諸臓器の線維化、硬化性病変によって特徴づけられる自己免疫疾患である。その原因はいまだ不明であり、皮膚や内臓の病変が発症後どのように進行するのか、ある特定の治療が有効であるのかどうかなどについても、まだよく分かっていない。また、本症には人種差がみられ、海外での知見が日本人に当てはまるとは限らない。これらを明らかにするには、SScの臨床症状、検査成績、自然経過、予後、治療の反応性などを発症早期から長期に記録をとって解析する必要がある。強皮症は比較的稀な病気であるため、一つの臨床研究機関では研究の成果を得るために必要な数が集まらない。そこで、多数の臨床研究機関で共同して行うことにした。この研究によってSScの経過が明らかになれば、ある特定の方に、病気がその後どのように進行するかを詳しく説明することができるようになり、不必要な不安を取り除くことが可能になると思われる。さらに、病気の進行を予測することによって、積極的治療の必要な症例とそうでない症例の判断に役立ったり、早期治療が可能となる。

そこで、特に予後や治療の選択が問題となる発症早期重症例患者を対象として、2002年1月以降に受診した症例を登録し、以後それらの症例に関して1年ごとに経過を追跡した。今回は2010年12月31日までに3年以上経過観察が可能であった症例において、臨床症状や検査所見の変化、症状悪化の予測因子の抽出を試みた。

## B. 研究方法

### 1) 登録施設

金沢大学医学部附属病院、北里大学病院、熊本大

学医学部附属病院、群馬大学医学部附属病院、慶應義塾大学病院、国際医療福祉大学附属熱海病院、札幌医科大学附属病院、筑波大学医学部附属病院、東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター、東京大学医学部附属病院、長崎大学医学部附属病院、名古屋大学医学部附属病院を受診した患者を対象とした。各施設において、倫理委員会の承認を受け、登録開始時には十分な説明を行い同意を得たうえで施行した。各施設の登録データは名前が特定できないように暗号化したうえで、金沢大学大学院医学系研究科に送付され、そこでまとめて解析することとなった。

### 2) 対象

ここでいう早期重症例とは、①早期例(初発症状から5年以内または皮膚硬化出現から3年以内)であり、かつ②diffuse cutaneous SSc (dcSSc)、または抗topoisomerase I抗体陽性、間質性肺炎、または急速な皮膚硬化のいずれかを有するlimited cutaneous SSc (lcSSc)であるものと定義した。2002年1月以降に受診した症例を対象として、その後は1年ごとに経過登録を行った。登録した項目の中で、今回解析に用いたのは以下の項目である。

性別、登録時の年齢、発症年齢、罹病期間、modified Rodnan total skin thickness score (MRSS)、本研究班で日本人強皮症用に改良されたhealth assessment questionnaire (HAQ)<sup>1)</sup>、抗トポイソメラーゼI抗体の有無、抗セントロメア抗体の有無、聴摩擦音の有無、開口距離、手の伸展距離、手指の屈曲距離、指尖潰瘍の有無、pitting scarの有無、爪かく部出血点の有無、間質性肺炎の有無(HRCTによる)、右室収縮期圧(ドップラー心エコーによる)、治療を要する不整脈の有無、上部消化管病変の有無、下部消化管病変の有無、腎クリーゼの有無、関節病変



の有無、筋病変の有無、%VC 値、%DLco 値、血清 KL-6 値上昇の有無、血清 SP-D 値上昇の有無、ステロイド内服の有無、サイクロフォスファミド投与の有無。

### 3) 統計的解析

統計ソフト JMP<sup>®</sup>7 を用いて、重回帰分析を行った。p<0.05 のときに、有意差があると判断した。

## C. 研究成果

### 1) 初回登録時のプロフィール

登録された症例は 197 例で、3 年後まで経過を追えたものが 87 例、5 年後までが 39 例であった (図 1)。血清マーカーの解析については次回以降に行うこととし、今回はまず 3 年以上経過を追えた 87 例に関して解析した。なお、これ以外に 6 例が 3 年以内に死亡した。このうち 2 例は強皮症に関連した心筋障害によるもので、そのうち 1 例では肺高血圧症を、もう 1 例では心嚢液貯留を伴っていた。また、SSc との関連は不明であるが、敗血症と血栓性血小板減少性紫斑病で 1 例ずつ死亡していた。ANCA 関連の肺動脈出血と子宮癌での死亡が 1 例ずつにみられた。

87 例のプロフィールは、男性 23 例、女性 64 例、登録時の年齢が  $47 \pm 16$  (平均  $\pm$  SD) 歳、罹病期間が  $28 \pm 27$  ヶ月、modified Rodnan total skin thickness score (MRSS) が  $18 \pm 9$  点で、HAQ-DI は  $0.27 \pm 0.44$  あった (図 2)。自己抗体は抗トポイソメラーゼ I 抗体が 64.5%、抗セントロメア抗体陽性が 8% で陽性であった。間質性肺炎が 69.4% にみられ、右室圧上昇が 13.8% に認められた。治療を要する不整脈は 1.1%、上部消化管症状は 40.2%、下部消化管症状は 3.4%、関節病変は 25.6%、筋病変は 11.5% に認められたが、1 年前から登録までの期間に腎クリーゼを有していた症例はなかった。指尖潰瘍は 2.2% に

認められた。%VC は  $94.6 \pm 20.7$  で、%DLco は  $68.2 \pm 19.8$  であった。

### 2) 3 年間の経過

皮膚硬化の変動を MRSS で評価した場合、登録時の  $17.7 \pm 9.5$  点から 1 年後には  $13.3 \pm 8.9$  点まで低下した (図 3)。その後の低下は緩徐であり、2 年後が  $13.0 \pm 9.1$  点、3 年後は  $11.5 \pm 8.1$  点であった。間質性肺炎の悪化の指標として %VC の低下が知られているが、%VC は初回が  $94.6 \pm 20.7$ 、1 年後が  $90.0 \pm 23.4$ 、2 年後が  $93.8 \pm 21.0$ 、3 年後が  $91.0 \pm 20.4$  点と、経過中に大きな変動はみられなかった (図 3)。%DLco も初回が  $68.2 \pm 19.8$ 、1 年後が  $66.5 \pm 19.6$ 、2 年後が  $65.8 \pm 19.5$ 、3 年後が  $67.3 \pm 24.2$  点と、有意な変化はみられなかった。

CT で間質性肺炎を認める症例や右室収縮期圧の上昇を認める症例の割合は、ほとんど変わらなかった (図 4)。指尖潰瘍を認める症例は、初回登録時の 2.2% に比べて、1 年後以降では 10% 前後と増加がみられた。逆に、爪かく部出血点の割合は、初回の 66.7% であったのが徐々に減少し、3 年後には 43.7% まで減少した。初回登録前後 (登録直後に開始を含む) にプレドニゾロン内服中の症例は 64% であったが、1 年後以降は 80% 以上の症例が内服していた。サイクロフォスファミドにて治療中の割合は、初回登録時には 13% (全例がステロイドを併用) で、その後有意な変化はみられなかった。グラフには示さないが、2 例が経過中に腎クリーゼを生じた。

### 4) 皮膚硬化の変動を予測する因子

次に、初回の臨床所見から 3 年後の皮膚硬化の程度、すなわち MRSS を予測出来る因子がないか、初回登録時の項目のうち、3 年後の MRSS と個々で比較的相関の高い抽出項目に関して、最小 2 乗法にて重回帰分析を行った。その結果から有意な項目を抽

出し、さらにステップワイズ法にて  $R^2$  (決定係数) のあてはまりのよい項目を決定し、3年後のMRSSを規定する重回帰式を次のように算出した(図5)。

3年後のMRSS=11.62+0.44\*初回のMRSS+初回のステロイド内服の有無(“あり”→-3.29、“なし”→3.29)+性別(“女性”→-1.59、“男性”→1.59)+-0.12\*初回の開口距離(mm)( $R^2=0.37$ 、初回のMRSS:p<0.0001、初回のステロイド内服の有無:p=0.002、性別:p=0.11、開口距離:p=0.08)。この結果から、3年後のMRSSに影響する因子として、初回登録時のデータの中で最も関連するのはMRSSで、次いでステロイド内服により低下する傾向がみられた。また、男性例で高い傾向がみられ、開口距離と相関する傾向がみられた。

同様の方法で間質性肺炎の重症度の指標として、3年後の%VCを予測する因子を検討した(図6)。3年後の%VC=70.3+0.33\*初回の%DLco+pitting scar(“あり”→-8.73、“なし”→8.73)+SP-D上昇(“あり”→-5.14、“なし”→5.14)+性別(“女性”→4.68、“男性”→-4.68)( $R^2=0.49$ 、初回の%DLco:p=0.004、pitting scar:p=0.01、SP-D上昇:p=0.11、性別:p=0.13)。このように、3年後の%VCに影響する因子として、初回登録時のデータの中で最も関連するのは、pitting scarのある症例で低下するというものであった。次いで%DLco(初回の%VCとは有意な相関なし)と有意に相関し、他にSP-D上昇例や男性で低下する傾向がみられた。なお、3年後の%DLcoは、個々の症例であまり変動がないのか、初回のデータの中では%DLcoのみと強く相関した。

#### D. 考案

3年間経過を追跡できた日本人強皮症の早期重症例87例に関して、臨床症状や検査データの推移、3

年後の皮膚硬化や間質性肺炎の重症度を予測する指標を検討した。

3年後までの経過の中で、MRSSは最初の1年間に平均で4点以上の低下がみられ、その後は緩徐な低下がみられたのみであった。この傾向は、2008年に我々が単一施設(金沢大学)より報告<sup>2)</sup>したものと同一傾向であった。1年目に低下が大きい理由はわからないが、以前の金沢大学での検討では、ステロイドの投与量が1年後までが1番多く、その影響があるものと考えられた。残念ながら、今回の検討では、全症例のステロイドの投与量は把握できなかった。%VCや%DLcoは、3年後まで横ばいかわずかに低下する傾向がみられた。これも、以前の金沢大学での検討結果と類似していた。今回の参加施設では、間質性肺炎の悪化傾向がみられた場合には速やかにサイクロフォスファミドパルス療法などの免疫抑制薬の併用を施行しているようであり、このため初回登録以後に悪化する症例が少なかった可能性がある。もうひとつの可能性としては、もともとILDの病勢が落ち着いていた症例が多かったものと思われる。実際に、間質性肺炎を有する症例の頻度は経過中にほとんど増えておらず、間質性肺炎は発症早期に出現することが多く、出現するとすれば、専門施設にかかる時点ですでに確認されることが多いようである。

指尖潰瘍を有する症例は、初回登録時には約2%であったが、1年後以降は10%前後に増えた。罹病期間に伴った血管障害の進行という説明も可能かもしれないが、最初の1年での増加がそれにしては大きいように思われる。この理由はよくわからないが、ステロイド治療に伴う凝固の亢進や動脈硬化の促進などの影響でないか、今後検討が必要と思われる。一方で、爪かく部出血点は経過とともに減少傾向を示

した。爪かく部出血点は、通常 SSc の病勢の強い時期にみられることが知られており<sup>3)</sup>、経過とともに、あるいはステロイドなどの治療により、病勢が抑制された可能性がある。ただし、その確認には、キャピラリースコープを用いて、出血点以外の血管の変化を評価する必要があると思われる。

さて、本プロジェクトの主たる目的は、皮膚硬化や肺などの内臓病変の悪化を予測する因子を明らかにすることである。初回登録時の所見の中で、3年後の MRSS を予測する重回帰式を求めたところ、初回の MRSS と正の相関、ステロイド内服と負の相関を示した。また、男性例では高値を示し、開口距離と負の相関を示す傾向がみられた。初回の MRSS と相関するのは予想された結果だが、ステロイド内服と相関して MRSS が低下することが明らかとなった。他に相関は弱い、男性例で MRSS が高い傾向、MRSS が開口距離と負の相関を示す傾向がみられた。ステロイド治療に関しては腎クリーゼを誘発するという報告もあるが、3年間で腎クリーゼを生じたのは2例のみで、うち1例がステロイドを内服しており、明らかな関連はみられなかった。腱摩擦音との相関も予想されたが、施設によってその頻度に差がみられたことから、手技や判定にばらつきが生じて有意な相関が検出できなかった可能性はある。自己抗体との関連では、抗 RNA ポリメラーゼ抗体については、全施設では検索できなかったため解析できなかった。早期重症例に絞って解析している性格上、抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性例が多く、抗セントロメア抗体陽性例が少なかったこともあるせいか、自己抗体との有意な関連はみられなかった。重回帰式の  $R^2$  は十分に大きくなかったが、施設や症例によっては MRSS を測定した医師が、年によって異なっており、MRSS の判定自体にも多少ばらつきが

あった可能性は否定できない。

3年後の %VC に関しては、興味深いことに初回登録時の pitting scar の存在が %VC の低下と最もよく相関した。他に、初回登録時の %VC ではなく、%DLco が有意に相関を示した。他には、相関は弱い SP-D の上昇例や男性例で %VC が低下する傾向がみられた。KL-6 の上昇、自己抗体、治療などとの関連はみられなかった。3年後の %DLco については、初回登録時のデータの中では %DLco のみで規定されてしまい、3年間あまり変動がなく、他の要因の影響を受けにくいものと思われた。日本人強皮症の特徴と一致して、今回の検討では肺高血圧を有する症例が少なかったが、肺高血圧を有する症例では %DLco が %VC に比べて顕著に低下することが知られているので、3年後の %VC や %DLco を予測する際に注意すべきと思われる。Pitting scar と %VC の低下との関連の理由はよくわからないが、皮膚と肺で臓器は異なっても、末梢に血流が届きにくいことが共通の要因になっているのかもしれない。

3年間の間に死亡した症例は6例であった。2例は強皮症に関連した心病変であり、ANCA 関連血管炎、TTP、敗血症、癌などの合併症で1例ずつ亡くなっていた。死亡例については数が少なく、今回は詳しい検討を行わなかったが、今後症例が増えるようであれば、その特徴や危険因子についても解析したい。

今後さらに3年この臨床研究を継続し、少なくとも5年以上の経過を追った症例に関して同様の解析を行って今回の知見を確認したい。また、これまでに集めた血清を用いて、各種のサイトカイン、ケモカイン、細胞成長因子、可溶性接着分子などを測定し、病勢や予後の指標となるものを特定したい。

## E. 結論

今回の検討で、皮膚硬化の治療としてステロイド内服が有効であることが示唆された。また、pitting scar や %DLco の低下は、間質性肺炎によるその後の %VC の低下を示唆するものと思われた。今後、さらに症例の集積とより長期の経過追跡が必要と考えられた。

## F. 文献

1. Kuwana M, Sato S, Kikuchi K, et al. Evaluation of functional disability using the health assessment questionnaire in Japanese patients with systemic sclerosis. J Rheumatol. 2003; 30: 1253-8.
2. Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, et al. Serum chemokine and cytokine levels as indicators of disease activity in patients with sys-

temic sclerosis. Clin Rheumatol. 2010 [Epub ahead of print].

## G. 研究発表

なし

## H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

## 謝辞

共著者に記載できなかったものの、各施設で本調査にご協力いただいた各先生方、統計解析についてご助言いただいた金沢大学大学院保健学の井上克己先生に深謝いたします。そして、各施設の登録票をデータ入力いただいた金沢大学皮膚科の林朋子さんと山田裕子さんに感謝いたします。