

201024029B

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20年度～平成22年度

総合研究報告書

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20年度～平成22年度

総合研究報告書

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（SSc）合併間質性肺炎に対するシクロホスファミドパルス療法後の維持療法としてミゾリビンを用いた2例…………… 9
研究代表者 佐藤伸一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学教授）
協力者 吉崎 歩， 築場広一， 岩田洋平， 小村一浩
研究分担者 小川文秀
2. ブレオマイシン（BLM）誘発強皮症（SSc）マウスモデルにおける細胞接着分子の役割に関する検討…………… 15
研究代表者 佐藤伸一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学）
協力者 吉崎 歩， 築場広一， 岩田洋平， 小村一浩
研究分担者 小川文秀
3. 全身性強皮症患者におけるダーモスコープを用いた爪上皮出血点ならびに拡大した爪郭毛細血管ループの観察…………… 31
研究代表者 佐藤伸一（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学）
協力者 室井栄治， 原 肇秀， 築場広一
研究分担者 小川文秀
4. Tight-skin（TSK）マウスおよびブレオマイシン（BLM）誘発強皮症（SSc）マウスモデルにおけるラバマイシンの効果に関する検討…………… 37
研究代表者 佐藤伸一（東京大学大学院医学系研究科）
協力者 吉崎 歩， 築場広一
研究分担者 浅野善英 小川文秀
5. Tight skin（TSK）マウスにおける硫化水素の効果…………… 49
研究代表者 佐藤伸一（東京大学大学院医学系研究科皮膚科学）
協力者 室井栄治， 吉崎 歩， 築場広一， 原 肇秀， 竹中 基
清水和宏
研究分担者 小川文秀（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学講師）
6. 汎発性強皮症患者の皮膚硬化および微小血管障害に対するメシル酸イマチニブの効果…………… 56
研究代表者 佐藤伸一（東京大学大学院医学系研究科皮膚科学）
研究分担者 浅野善英
協力者 玉城善史郎， 川嶋智彦， 富田 学， 宮寄美幾， 谷口隆志

蘆田龍一, 波多野将, 八尾厚史, 志賀太郎, 絹川弘一郎

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…………… 60
研究代表者 佐藤伸一 (東京大学大学院医学系研究科皮膚病態学)
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. 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…………… 65
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
9. 強皮症の皮膚線維化における IL-17 signaling の関与…………… 71
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分野)
協力者 中嶋泰治 (熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学分野 大学院生)
10. プレオマイシン誘導性強皮症モデルマウスにおける
transforming growth factor- β (TGF β) を標的とした皮膚硬化抑制の試み…………… 79
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)
協力者 尾山徳孝, 若槻(中村)妙子
11. プレオマイシン誘導性皮膚硬化における Sunitinib の効果について…………… 88
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 尾山徳孝, 若槻妙子
12. 全身性強皮症患者の指尖部潰瘍に対するボセンタン治療…………… 92
分担研究者 川口鎮司 (東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター)
協力者 大田ゆう子, 高木香恵, 栃本明子, 原 まさ子
13. シクロホスファミド静注およびステロイド内服併用療法による
間質性肺病変合併強皮症の4年間の治療成績…………… 96
研究分担者 川口鎮司 (東京女子医大膠原病リウマチ痛風センター)
協力者 栃本明子, 高木香恵, 大田ゆう子, 立石陸人, 原 まさ子
14. CTGF 遺伝子多型と強皮症発症との関与…………… 104
研究分担者 川口鎮司 (東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター)
研究分担者 桑名正隆, 藤本 学
研究協力者 土屋尚之, 長谷川稔
研究代表者 佐藤伸一 (教授)
協力者 大田ゆう子, 高木香恵, 栃本明子, 竹原和彦, 伊東郁恵

15. 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…………… 110
研究分担者 川口鎮司（東京女子医大附属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
16. 全身性強皮症に対するシルデナフィルの有効性…………… 114
研究分担者 川口 鎮司（東京女子医大附属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
17. 強皮症に伴う末期間質性肺疾患に対するボセンタンの有効性…………… 117
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部内科）
協力者 古屋善章（慶應義塾大学医学部内科助教）
18. 強皮症末梢血単球のフェノタイプ解析…………… 122
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部内科）
協力者 増田絢子，安岡秀剛，山口由衣，岡崎有佳，佐藤隆司
19. 全身性強皮症に見出された新規抗核抗体：抗 RuvBL1/RuvBL2 抗体…………… 129
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 加治賢三，佐藤隆司，星野香菜，濱口儒人，竹原和彦
研究分担者 藤本 学，小川文秀
研究協力者 長谷川稔
研究代表者 佐藤伸一
20. 循環血中血管内皮前駆細胞（EPC）定量法の標準化…………… 135
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部内科准教授）
協力者 岡崎有佳，佐藤隆司，安岡秀剛
21. 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…………… 141
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部内科）
研究協力者 安岡秀剛
22. 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…………… 147
研究分担者 桑名正隆（慶應義塾大学医学部内科）
23. 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…………… 152
分担研究者 藤本 学（金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学）
協力者 濱口儒人
研究協力者 長谷川稔
協力者 竹原和彦
主任研究者 佐藤伸一

24. Tight skin (TSK) マウスにおけるヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果…………… 157
 研究分担者 小川文秀 (長崎大学医学部附属病院皮膚科・アレルギー科)
 講師
 協力者 原 肇秀, 室井栄治, 吉崎 歩
 研究代表者 佐藤伸一
25. エダラボンは Tight-skin (TSK) マウスおよびブレオマイシン (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…………… 164
 主任研究者 佐藤伸一 (東京大学大学院医学系研究科・医学部皮膚科学)
 協力者 吉崎 歩
 分担研究者 小川文秀
 協力者 築場広一, 吉崎麻子
 分担研究者 浅野善英
26. 転写因子 Fli1 が angiogenesis における血管内皮細胞の動態に及ぼす影響…………… 176
 研究分担者 浅野善英 (東京大学医学部附属病院皮膚・皮膚光線レーザー科)
 協力者 Lukasz Stawski, Maria Trojanowska
27. メシル酸イマチニブによる皮膚線維芽細胞における
 I型コラーゲン産生抑制の機序…………… 186
 研究分担者 浅野善英 (東京大学医学部附属病院皮膚・皮膚光線レーザー科)
 協力者 Andrea Bujor, fellow Maria Trojanowska
28. 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…………… 195
 研究分担者 浅野善英 (東京大学大学院医学系研究科・医学部皮膚科学)
 協力者 Maria Trojanowska
29. 全身性強皮症と FAM167A (C8orf13)-BLK および
 STAT4 領域遺伝子多型の関連…………… 204
 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)
 研究協力者 長谷川稔
 研究分担者 川口鎮, 藤本 学
 研究代表者 佐藤伸一
 協力者 伊東郁恵, 川崎 綾, 竹原和彦, 原まさ子
30. 全身性強皮症と interferon regulatory factor 5 (IRF5)
 領域遺伝子多型の関連…………… 211
 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
 研究分担者 川口鎮司
 協力者 川崎 綾
 研究協力者 長谷川稔
 研究分担者 藤本 学

協力者 竹原和彦
研究代表者 佐藤伸一
協力者 原まさ子

31. プレオマイシン誘導性強皮症マウスモデルにおける inducible costimulator (ICOS)、
inducible costimulator ligand (ICOSL) の役割に関する検討…………… 219

研究協力者 長谷川稔 (金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者 田中千洋, 濱口儒人
研究分担者 藤本 学 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学准教授
研究代表者 佐藤伸一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学教授
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

32. 全身性強皮症患者における制御性 B 細胞の解析…………… 228

研究分担者 藤本 学 (金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者 松下貴史
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

33. TGF- β /Smads シグナルを抑制する新規低分子化合物の強皮症モデルに対する
治療効果の検討…………… 233

研究協力者 長谷川 稔 (金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者 松下幸世, 堀川真由香, 白崎文朗, 東 清史, 冨ヶ原祥隆, 金子 秀雄
分担研究者 藤本 学
協力者 竹原和彦
研究代表者 佐藤伸一

34. 強皮症早期重症例の長期経過観察 —中間報告— …………… 242

研究協力者 長谷川稔 (金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学)
研究分担者 浅野善英 (東京大学大学院医学系研究科皮膚病態学講師)
研究分担者 石川 治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚病態学教授)
研究分担者 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 (東京大学大学院医学系研究科皮膚病態学教授)

35. サイクロフォスファミドパルス療法後にシクロスポリンによる
後療法を要した活動性間質性肺炎合併全身性強皮症…………… 250

研究協力者 小寺雅也 (社会保険中京病院 皮膚科)
協力者 臼田俊和, 飯島亜由子, 村瀬由美, 加藤恵子, 岩田洋平

36. 全身性強皮症のリハビリテーション—その自主トレーニングの提案—…………… 254

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, 竹原和彦
研究代表者 佐藤伸一

37. びまん型全身性強皮症に対する IVIG の二重盲検比較試験…………… 268

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)
研究分担者 尹 浩信
研究代表者 佐藤伸一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 281

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病態学	教授
	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	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リウマチ膠原病センター	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内科学教室リウマチ内科	准教授
	高橋裕樹	札幌医科大学医学部第一内科	准教授
	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
	小川文秀	長崎大学医学部附属病院皮膚科・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	後藤大輔	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（膠原病リウマチアレルギー）	講師
	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
	稲垣 豊	東海大学医学部基盤診療学系	教授
	安井正英	金沢市立病院呼吸器科	医長
	山崎雅英	金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学（血液内科）	講師
	中嶋憲一	金沢大学医薬保健研究域医学系バイオトレーサ診療学（核医学診療科）	講師

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）
総合研究報告書（3年間のまとめ）

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

研究要旨

全身性強皮症は膠原線維の増生、血管病変、免疫異常の3つの主要病態よりなるが、相互の関連性については不明であった。本班研究ではこの3つの病態を一元的に説明しうる分子として転写因子 Fli1 を世界に先駆けて同定し、Fli1 を軸とした一元化モデルの作業仮説を提示した。その他、B細胞、T細胞、単球などにおける免疫学的異常、線維芽細胞の活性化機序、血管内皮細胞異常の詳細がそれぞれ明らかにされた。加えて、強皮症の疾患感受性遺伝子として、interferon regulatory factor 5 (IRF5)、connective tissue growth factor (CTGF)、B lymphoid kinase (Blk) の遺伝子多型も同定した。これらの異常と、Fli1 を軸とした一元化モデルの作業仮説との関連性を明らかにすることが今後の課題である。また、ラパマイシン、硫化水素、エダラボンなど新規治療法となりうる薬剤のシーズも動物モデルを用いて同定した。

臨床的にはEBMに基づいた診療ガイドライン、強皮症診療医リスト、リハビリテーションプログラムなどを作成・公開した。これにより標準的治療法の普及、QOLの向上、早期診断の促進が期待される。患者に対して既存薬剤の投与による有効性の検討も行い、その結果、シクロホスファミド、ボセンタン、イマチニブなどの有効性が示唆された。また、強皮症早期例登録事業を予備的に解析した結果、血清 monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 値や IL-6 値が強皮症の活動性を反映していることが示唆された。これにより、活動性や今後の進行を早期に予想することが可能となれば、効果的な早期治療が期待できる。このように、本班研究では、病態の一元化モデルの作業仮説を提示することによって病因解明に迫るとともに、標準的治療法の導入、早期診断の促進など患者の予後改善、QOL向上に貢献できる研究成果を挙げたものと考えられた。

研究分担者 石川 治 群馬大学大学院医学系研究科皮膚病態学 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攻臨床免疫学 教授

研究分担者 後藤大輔 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 講師

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リウマチ膠原病センター 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 慶應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臨床免疫学 准教授
研究分担者 藤本 学 金沢大学大学院医学系研究科血管新生・結合学組織代謝学皮膚科 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。強皮症は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、皮膚潰瘍、肺高血圧症など）、3) 免疫異常（自己抗体産生など）といった3つの病態よりなる。しかし、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、様々な薬剤が強皮症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。以上の背景を踏まえて、本研究班においては、以下のテーマを中心に研究を展開した。(1) 膠原線維の増生、免疫異常、血管障害の3つの主要病態を説明しうる一元化モデルの作成、(2) 強皮症発症の遺伝的背景を明らかにするため、様々な遺伝子における多型の検索、(3) 強皮症動物モデルを用いた、新規治療法となりうる薬剤のスクリーニング、(4) 標準的治療法の策定と普及、QOLの向上、および早期診断の推進、(5) 既存治療薬による有用性の解析、(6) 2002年から継続している重症型強皮症早期例の登録事業を活用した、強皮症の活動性や予後を反映する因子の同定。

B. 研究方法と研究結果

(1) 強皮症の一元化モデルの作成

一元化モデルの作成に関しては、2つの側面からアプローチする。第一に、3つの主要病態それぞれについてどのような異常があるのかを詳細に解析し、互いを結びつける手がかりを検索する。第二に、3つの主要病態を関連づけうる候補分子の同定を目指す。

(2) 強皮症における遺伝子多型の検索

遺伝子多型の検索については、他の自己免疫疾患で同定された遺伝子多型や強皮症の病態に関与が示唆されている分子を中心に行う。

(3) 新規治療法となりうる薬剤のスクリーニング

これまでの研究の結果より、効果が期待される薬剤の有効性を、プレオマイシン誘発性皮膚硬化・肺線維症モデル、強皮症の自然発症動物モデルであるtight-skin (TSK) マウスなどを用いて検討する。

(4) 標準的治療法の策定と普及、QOLの向上、および早期診断の推進

日本人強皮症患者については、これまでEBMに基づいた診療ガイドラインが策定されていなかったために、標準的治療法の普及が遅れていた。そこでまずEBMに基づいた診療ガイドラインを策定し、公開する。QOL向上のために、強皮症リハビリテーションプログラムの作成と公開を行う。早期診断推進のために、強皮症診療医リストの作成と公開、お

よびダーモスコピーによる爪郭部血管異常の検出の早期診断への有用性の検討を行う。

(5) 既存治療法の強皮症患者への有用性の解析

シクロホスファミド、ボセンタン、イマチニブ、シルデナフィルなどの既存治療法で強皮症に効果が期待される薬剤の有効性を検討する。また、強皮症に対する免疫グロブリン大量静注療法との二重盲検比較試験を継続する。

(6) 活動性や予後を反映する因子の同定

2002年から重症型強皮症早期例の登録事業を行い、毎年臨床データおよび血清を集積・保存している。このデータベースから、強皮症の活動性や予後を反映する分子を同定する。

(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) 強皮症の一元化モデルの作成

(1-1) 免疫異常に関する研究成果

・制御性B細胞数が強皮症患者の末梢血液中で減少し、B細胞による免疫抑制機構の異常が明らかにされた(藤本)。

・ブレオマイシン誘発性肺線維症モデルで抗CD20抗体によるB細胞除去療法の有効性が確認された(藤本)。

・炎症細胞が組織に浸潤する際に重要な役割を果たす細胞接着分子のL-セレクチンやICAM-1を欠損したマウスでは、皮膚硬化や間質性肺炎の改善が見

られた(佐藤)。

・T細胞の活性化に必要なICOSを欠くマウスでは、肺や皮膚の線維化が改善した(長谷川)。

・強皮症由来単球における遺伝子発現についてDNAマイクロアレイを用いて網羅的に解析したところ、MCP-1が強皮症では健常人と比較して高発現していた(桑名)。

・抗RuvBL1/RuvBL2抗体が本症の新規自己抗体として同定された(桑名)。重症型の強皮症に多く、間質性肺炎、心筋障害、血清CK値上昇と相関していたことから、臨床的に重要な自己抗体であると考えられた。

(1-2) 線維芽細胞異常に関する研究成果

・イマチニブによるコラーゲン産生抑制機序が解明された(浅野)。

・IL-17に抗線維化作用があり、IL-17受容体の発現が強皮症由来線維芽細胞で低下していたことから、IL-17を介した新しい線維芽細胞活性化機序が明らかにされた(尹)。

・siRNAによるCTGFの長期サイレンシングによって、強皮症由来線維芽細胞はより強く細胞増殖が抑制された(石川)。

(1-3) 血管内皮細胞異常に関する研究成果

・強皮症における循環血中血管内皮前駆細胞の定量法については国際的に統一されていなかったが、再現性のある方法を見だし、標準化を行った(桑名)。

・強皮症由来血管内皮前駆細胞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示された(桑名)。

(1-4) 3つの病態に共通に関与しうる候補分子の同定(図参照)

・転写因子Fli1は線維芽細胞からのコラーゲン産生を抑制し、Fli1を血管内皮細胞でノックアウトし

たマウスでは強皮症類似の血管病変が誘導されることを明らかにした(浅野)。Fli1 の発現が強皮症患者の線維芽細胞や血管内皮細胞で低下していることも確認している。この Fli1 発現低下により、線維芽細胞よりコラーゲン産生が増加し、その結果線維化が生じ、一方 Fli1 発現低下は血管内皮細胞の異常を誘導し、その結果血管障害が生じると考えられる。Fli1 と免疫異常との関連性は現在のところ明らかではないが、本班研究によって、強皮症の主要な3病態のうち2つを結びつけることができる、一元化モデルの軸となる転写因子 Fli1 が同定された。なお Fli1 は免疫細胞にも発現しているため、免疫異常にも関与している可能性が示唆されていることから、今後この点について解明を進める必要がある。

(2) 強皮症における遺伝子多型の検索

・I型インターフェロンの誘導に関与する転写因子である IRF5 の rs2280714 において IRF5 mRNA の増加と相関する A アリルの頻度が、強皮症、特に重症型の強皮症で増加していた(土屋)。

・線維化に深く関与していると考えられている CTGF の遺伝子の翻訳開始部位から -945 の SNP rs6918698 において、強皮症患者では G アリルの頻度が健常人に比較して有意に高かった(川口)。

・FAM167A-B1k 遺伝子の SNP rs13277113 と強皮症との関連性が見いだされた(土屋)。

(3) 新規治療法となりうる薬剤のスクリーニング

・プレオマイシン誘導性強皮症モデルにおいて、transforming growth factor (TGF)- β 1 latency associated peptide の投与により皮膚硬化が改善された(山本)。

・TSK マウスで、ヒストン・デアセチラーゼ阻害剤である trichostatin A によって皮膚硬化が改善した(小川)。

・TSK マウスやプレオマイシン誘発皮膚硬化モデルにおいて、免疫抑制薬であるラパマイシンが皮膚硬化を軽減した(佐藤)。

・TSK マウスやプレオマイシン誘発性間質性肺炎モデルにおいて、転写因子 YB-1 の核内移行の活性化を介して TGF- β /Smads を阻害する化合物 HSc025 の投与によって線維化が軽減した(長谷川)。

・プレオマイシン誘導性皮膚硬化に対して、分子生薬 sunitinib の有効性が示された(山本)。

・TSK マウスやプレオマイシン誘発皮膚硬化モデルにおいて、活性酸素除去薬であるエダラボンが線維化と自己免疫異常を抑制した(佐藤)。

(4) 標準的治療法の策定と普及、QOL の向上、および早期診断の推進

・EBM に基づいた診療ガイドラインを作成しホームページ上に公開した。

・強皮症診療医リストを作成し、ホームページ上に公開した(佐藤)。

・ダーモスコピーによる爪郭部血管異常の検出は、症状の軽い不全型や早期例の診断に有用であることを明らかにした(佐藤)。

・強皮症リハビリテーションプログラムを策定し、ホームページ上に公開した(麦井)。

(5) 既存治療法の強皮症患者への有用性の解析

・間質性肺炎に対して、シクロホスファミドパルス療法および内服療法が有効であった(川口、桑名)。

・肺線維症に対するシクロホスファミドパルス療法の後療法として、ミゾリピンやシクロスポリンが有効であることが示唆された(佐藤、小寺)。

・シクロホスファミドパルス療法が皮膚硬化に対しても有効であることが示された(川口)。

・エンドセリン受容体拮抗薬であるボセンタンが、指尖部潰瘍やレイノー症状を改善することが示され

た（川口、佐藤、浅野、石川など）。

・末期間質性肺疾患に対してボセンタン投与群では、生命予後が改善される傾向が認められた（桑名）。

・イマチニブの、強皮症に伴う肺高血圧症、皮膚硬化および微小血管障害に対する有用性が示唆された（浅野）。

・シルデナフィルが、早期肺高血圧症、皮膚潰瘍に有効であることが示唆された（川口）。

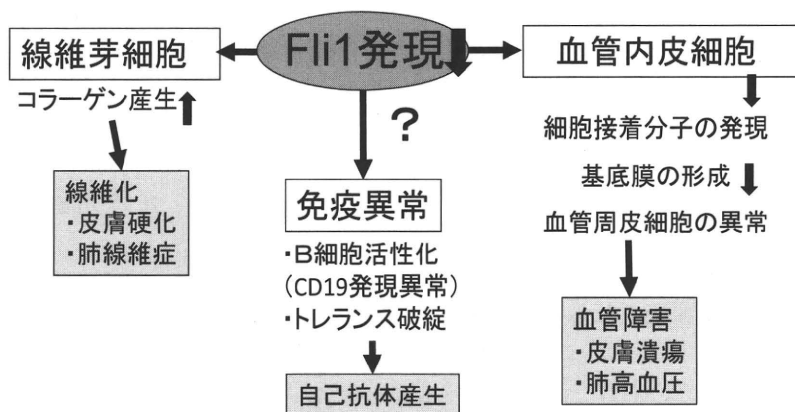
・免疫グロブリン大量療法の二重盲検比較試験では、

プラセボに比較して有意な改善は認められなかったが、本邦で初めて二重盲検試験を強皮症に対して施行しえたという意義は大きいと考えられた（全班員）。

(6) 活動性や予後を反映する因子の同定

2002年から継続している重症型強皮症早期例の登録事業を予備的に解析した結果、血清

MCP-1 値や IL-6 値が強皮症の活動性を反映していることが示唆された（長谷川）。



図：Fli1による全身性強皮症の一元化モデル（作業仮説）

D. 考察

強皮症の一元化モデル作成については、本班研究で完成することができなかったものの、各病態を詳細に検討した結果、Fli1を中心とした一元化モデルの作業仮説を作成することができた（図参照）。現時点ではFli1は強皮症の主要病態のうち、線維化と血管障害を説明することができるが、免疫異常との関連性が未だ明らかではない。今後Fli1と免疫異常、特に強皮症の免疫異常の中心をなすCD19発現異常などのB細胞機能異常との関連性を明らかにする必要がある。

今回のSNPによる解析にて、IRF5、CTGF、Blkにおける特定の遺伝子多型の頻度が強皮症で増加し

ていることが明らかにされた。しかし、強皮症の遺伝的背景を理解するためには genome wide association study (GWAS) が必要となる。現在、本班研究の一環として、GWASに向けて抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性重症型強皮症患者のDNAサンプルを収集中であり、現在250例を集めることができた（解析には最低300例が必要）。今後、これらのDNAサンプルによってGWASが行われ、その結果が明らかにされることが期待される。

本班研究で、EBMに基づく診療ガイドラインが初めて作成された。これまで標準的な治療法が提示されていなかったため、施設間や診療科間で治療法が異なり、患者に不利益が生じるリスクが存在して

いた。今後、新たに作成した診療ガイドラインをホームページ上などで公開するのみならず、研修会などを開催してその内容を周知徹底することが求められる。

今回の班研究でも明らかになったように、肺線維症や皮膚硬化へのシクロホスファミドの有効性、ボセンタンの皮膚潰瘍への有効性、イマチニブの皮膚潰瘍、皮膚硬化、肺高血圧症への有効性など、強皮症に対する治療法は進歩しつつある。これらの薬剤は早期に治療すればするほど、より高い有効性が期待できる。そのためには早期診断が必要となり、国際的には早期診断基準などの策定が進められつつある。しかし、強皮症の症状発現には人種差が大きい。そのため、欧米で作られた診断基準をそのまま当てはめることができない可能性も高く、今後日本人強皮症患者に対する早期診断基準が開発されることが望まれる。

E. 結論

本班研究では、Fli1 を軸とした強皮症病態の一元化モデルの作業仮説が作成され、病因解明に向けた重要な成果を残すことができた。今後このモデルと免疫異常との関連性および Fli1 をターゲットとする治療薬の開発が望まれる。臨床的には診療ガイドライン、強皮症診療医リスト、リハビリテーションプログラムなどが作成され、標準的治療法の普及、QOL の向上、早期診断の促進に貢献した。また、強皮症に有効性が期待される新規薬剤の候補や、既存薬で強皮症に有効性が期待される薬剤も同定され、今後さらなる有効性の検討が必要であるが、治療法の進歩に貢献することができた。

F. 研究発表

「研究成果の刊行に関する一覧表」参照

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

桑名正隆

<国内特許>

1. 出願番号： 特許出願 2008-237479 (出願日 2008 年 9 月 17 日)

出願人： 学校法人 慶應義塾

発明者： 花岡洋成、桑名正隆

発明の名称： 全身性エリテマトーデス (SLE) の診断・活動性評価キット

2. 出願番号： 特許出願 2008-223789 (出願日 2008 年 9 月 1 日)

出願人： 学校法人 慶應義塾

発明者： 佐藤慎二、桑名正隆、藤田尚志

発明の名称： 皮膚筋炎の診断方法および診断キット

<国際特許>

1. 国際出願番号： PCT/JP04/003680 (国際出願日： 2008 年 10 月 22 日)

米国出願番号： 12/738,997

欧州出願番号： 08843082.2

取得年月日： 2010 年 9 月 14 日

US Patent 7,795,018

出願人： 学校法人 慶應義塾

発明者： 桑名正隆、小玉博明

発明の名称： 単球由来多能性細胞 MOMC (Monocyte-origin multipotent cell MOMC)

2. 国際出願番号： PCT/JP2009/063633 (国際出願日： 2009 年 7 月 31 日)

出願人： 学校法人 慶應義塾

発明者： 佐藤慎二、桑名正隆、藤田尚志
発明の名称： 皮膚筋炎の診断方法および診断
キット

3. 国際出願番号： PCT/JP2008/002990（国際出
願日： 2008年10月22日）
米国出願番号： 12/738,997
欧州出願番号： 08843082.2
出願人： 学校法人 慶應義塾
発明者： 桑名正隆、加藤尚志、瀬田範行、宮
崎洋
発明の名称： 単球由来多能性細胞（MOMC）
の効率的な作製法

(Method for efficient production of Monocyte-
derived multipotent cell (MOMC))

住田孝之

<出願中特許>

1. 特願番号： 2008-022714号（国際出願日：
2008年2月1日）
出願人： 学校法人 慶應義塾
発明者： 佐藤慎二、桑名正隆、藤田尚志
発明の名称： 関節炎誘発ペプチド
発明の内容： 15mer のペプチドの簡略
便に安定した関節炎を誘導できる。

Ⅱ. 分担研究報告

強皮症（SSc）合併間質性肺炎に対する シクロホスファミドパルス療法後の維持療法としてミゾリビンを用いた2例

研究代表者 佐藤伸一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授
協力者 吉崎 歩 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 大学院生
協力者 築場広一 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 助教
協力者 岩田洋平 社会保険中京病院皮膚科 医員
協力者 小村一浩 金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学 助教
研究分担者 小川文秀 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 講師研究

研究要旨

近年強皮症に合併した活動性のある間質性肺炎に対して、シクロホスファミドパルス療法が有効かつ副作用の少ない治療として注目を集めている。しかしながら、シクロホスファミドパルス療法単独では治療終了後数年で治療開始前の状態へ戻ってしまうため、副作用の少ない維持療法の開発が望まれている。今回、我々は強皮症合併間質性肺炎の2例においてミゾリビン 150 mg の単回内服投与を、シクロホスファミドパルス後の維持療法として用いた。この2例において経過中、間質性肺炎の再燃を認めず副作用も認められなかった。ミゾリビン 150 mg の単回内服投与は、強皮症合併間質性肺炎に対するシクロホスファミドパルス後の維持療法として有用と考えられた。

A. 研究目的

強皮症（SSc）において間質性肺炎は頻度が多く¹⁾、その合併により日常生活は制限され、重篤な場合は生命を脅かす。近年、SSc 合併間質性肺炎に対してシクロホスファミドパルス療法の有効性が報告されているが、シクロホスファミドパルス療法単独では、シクロホスファミドによる炎症の抑制効果は治療後1年間で失われ、肺線維症の状態は未治療群と同程度となってしまうことが報告されている^{2,3)}。つまり、シクロホスファミドパルス療法における炎症の抑制は、線維化を改善させるが、その効果を維持するために、免疫抑制剤による維持療法が必要と考えられる。

ミゾリビン（MZR; ブレディニン[®]）はシクロスポ

リン、タクロリムス、メトトレキサート、アザチオプリンなどに比べ、肝毒性や骨髄抑制をはじめとする有害事象の発現が少なく、比較的安全な免疫抑制剤とされる^{4,5)}。今回の研究目的はシクロホスファミドパルス後の維持療法における MZR の有用性について検討することにある。

B, C. 研究方法および結果

症例 1; 66 歳、男性

家族歴; 特記事項なし

既往歴; 特記事項なし

現病歴; 初診の 21 年前よりレイノー症状が出現。同時期より手指、手背、前腕、上腕、前胸部の皮膚硬化を認め、近医にて SSc の診断。初診時に精査目

的で撮影されたCTにて間質性陰影認め、SScに合併した間質性肺炎を疑われ、精査加療目的に当科入院。

現症；Raynaud症状：有り（三相性）、modified Rodnan total skin thickness score (TSS)：12点、指尖潰瘍および癬痕：なし

血液検査所見；RBC: $501 \times 10^4/\mu$ 、Hb: 13.4 g/dl、Hct: 44.2%、Plt: $22.3 \times 10^4/\mu$ l、WBC: $5500/\mu$ l、CRP: 0.12 mg/dl、AST: 13 IU/l、ALT: 12 IU/l、LDH: 243 IU/l、BUN: 13 mg/dl、Cr: 0.34 mg/dl、KL-6: 570 U/ml、SP-D: 122 ng/ml、抗核抗体；Speckled 320倍、抗RNA polymerase I/III抗体：陽性

呼吸機能検査所見；%VC: 98.2%、FEV1.0%: 72.3%、%DLco: 54.6%

胸部HRCT所見；両下葉に胸膜直下より広がる粒状網状影と一部にすりガラス影を認めた（図1）

気管支肺胞洗浄液（BAL）所見；総細胞数： $23.2 \times 10^4/\text{ml}$ 、好中球：11.4%、リンパ球：21.3%

治療および経過；経過を図2に示した。入院後に間質性肺炎の原因として感染症などを否定し、強皮症合併間質性肺炎の診断を確定した後に、プレドニゾロン 20 mg/day 内服を併用のうえ、シクロホスファミドパルス療法（理想体重 x 15 mg/dose/month、計6回）を行った。シクロホスファミドパルス療法終了後、間質性肺炎の改善を認めた。その後の維持療法としてMZR 150 mgの単回内服療法を開始した。このときの血中濃度は内服後3時間値を1-2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と設定した。併せてプレドニゾロンの減量を徐々に行った。維持療法開始後6ヶ月間で、胸部HRCT、呼吸機能検査、KL-6、SP-Dなどの血液検査上、間質性肺炎の増悪を認めなかった。プレドニゾロンは現在12.5 mg/dayまで減量できた。経過を通して現在までMZRの副作用は認めていない。

症例2；46歳、女性

家族歴；特記事項なし

既往歴；小児期に凍瘡

現病歴；初診の20年前よりレイノー症状が出現。初診の4年前より手指、手背、前腕、上腕、前胸部の皮膚硬化と指尖潰瘍を認め、近医にてSScの診断。初診時に撮影されたCTにて間質性陰影認め、SScに合併した間質性肺炎を疑われ、同年、精査加療目的に当科入院。

現症；Raynaud症状：有り（三相性）、TSS: 15点、指尖潰瘍：なし、指尖癬痕：右第3、4指、左第3指に認めた

血液検査所見；RBC: $459 \times 10^4/\mu$ 、Hb: 13.7 g/dl、Hct: 41.1%、Plt: $20.7 \times 10^4/\mu$ l、WBC: $4900/\mu$ l、CRP: 0.14 mg/dl、AST: 17 IU/l、ALT: 18 IU/l、LDH: 268 IU/l、BUN: 11 mg/dl、Cr: 0.32 mg/dl、KL-6: 584 U/ml、SP-D: 165 ng/ml、抗核抗体；Speckled 640倍、抗topoisomerase I抗体：224.2 U/ml

呼吸機能検査所見；%VC: 94.7%、FEV1.0%: 80.2%、%DLco: 54.5%

胸部HRCT所見；両下葉に胸膜直下より広がる粒状網状影と一部にすりガラス影を、一部に浸潤影を認めた（図1）

気管支肺胞洗浄液（BAL）所見；総細胞数： $22.8 \times 10^4/\text{ml}$ 、好中球：5.8%、リンパ球：16.7%

治療および経過；経過を図3に示した。入院後に間質性肺炎の原因として感染症などを否定し、強皮症合併間質性肺炎の診断を確定した後に、プレドニゾロン 20 mg/day 内服を併用のうえ、シクロホスファミドパルス療法（理想体重 x 15 mg/dose/month、計6回）を行った。シクロホスファミドパルス療法終了後、間質性肺炎の改善を認めた。その後の維持療法としてMZR 150 mgの単回内服療法