

201442041A

厚生労働科学研究委託費

難治性疾患実用化研究事業

強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 尹 浩信

平成 27 年 (2015 年) 3 月

本報告書は、厚生労働省の平成 26 年度厚生労働科学研究委託事業（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業））による委託業務として、尹 浩信が実施した平成 26 年度「強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究」の成果を取りまとめたものです。

【目次】

班員名簿

I. 委託業務成果報告（総括）	3
業務主任者 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）	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1、強皮症病態の一元化モデルの作成	
(1) ブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスの線維化と炎症・免疫異常、 血管内皮特異的 Fli1 欠失マウスの血管障害に対して Rho キナーゼ阻害薬 ファスジルが及ぼす影響についての検討	33
担当責任者 浅野善英（東京大学医学部附属病院皮膚科）	
担当責任者 佐藤伸一	
協力者 遠山哲夫、谷口隆志、高橋岳浩、市村洋平、三枝良輔、山下尚志、 中村洸樹、Maria Trojanowska、門野岳史	
業務主任者 尹 浩信	
2、GWAS プロジェクト	
(1) 全身性強皮症感受性遺伝子の同定	45
担当責任者 岡 晃（東海大学総合医学研究所）	
業務主任者 尹 浩信	
(2) 日本人・ヨーロッパ人における強皮症 GWAS 国際メタ解析	49
協力者 寺尾知可史（京都大学大学院医学研究科附属ゲノム医学センター）	
担当責任者 川口鎮司、桑名正隆、岡 晃、長谷川稔、藤本 学、石川 治、 山本俊幸、後藤大輔、浅野善英、神人正寿、佐藤伸一、竹原和彦、 高橋裕樹、土屋尚之、川崎 綾、古川 宏、當間重人、遠藤平仁、 柳田英寿、鮎澤菜穂、堀田哲也、大村浩一郎、吉藤 元、松田文彦、 三森経世、Yannick Allanore Cochin Hospital	
業務主任者 尹 浩信	
(3) 日本人集団における全身性強皮症と 免疫グロブリン様受容体 LILRA3 欠失多型の関連研究	53
研究協力者 土屋尚之（筑波大学医学医療系生命医科学域分子遺伝疫学）	
担当責任者 長谷川稔、藤本 学、佐藤伸一、竹原和彦	
協力者 八谷有紀、川崎 綾、松下貴史、住田孝之、當間重人、古川 宏	
業務主任者 尹 浩信	
3、その他の病因・病態解明プロジェクト	
(1) 皮膚硬化型慢性 GVHD モデルにおける p38 MAPK の役割の検討	58
担当責任者 竹原和彦（金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学）	
協力者 松下貴史、濱口儒人、伊達 睦	
業務主任者 尹 浩信	

(2) 全身性強皮症の皮膚線維化における EBI3 の関与の検討	68
業務主任者	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	工藤英郎
担当責任者	神人正寿
(3) 強皮症皮膚硬化における TGF- β /ET-1 autocrine loop の作用機序に関する解析 ...	85
担当責任者	川口鎮司(東京女子医科大学リウマチ科)
協力者	樋口智昭、高木香恵、栃本明子
業務主任者	尹 浩信
(4) 全身性強皮症における TET の関与についての検討	90
担当責任者	石川 治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者	服部麻衣、服部友保、横山洋子、天野博雄、茂木精一郎、 畑田出穂
業務主任者	尹 浩信
(5) 全身性強皮症、限局性強皮症における miR-196a の発現低下と 皮膚線維化の機序への関与について	99
業務主任者	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)
研究協力者	牧野貴充
担当責任者	神人正寿
協力者	本多教稔、牧野雄成、梶原一亨
(6) 全身性強皮症患者病変部皮膚における long non-coding RNA TSIX の機能の検討	108
業務主任者	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	王 中志
(7) 全身性強皮症における progranulin の発現異常とその意義	113
担当責任者	浅野善英 (東京大学医学部附属病院皮膚科)
担当責任者	佐藤伸一
協力者	市村洋平、赤股要、野田真史、谷口隆志、高橋岳浩、遠山哲夫、 門野岳史
業務主任者	尹 浩信
(8) ブレオマイシン誘発強皮症モデルマウスの線維化、血管障害および炎症・免疫異常の 病態における転写因子 IRF5 の役割についての検討	124
担当責任者	佐藤伸一 (東京大学医学部附属病院皮膚科)
担当責任者	浅野善英
協力者	三枝良輔、中村洗樹、山下尚志、市村洋平、高橋岳浩、遠山哲夫、 谷口隆志、吉崎 歩
業務主任者	尹 浩信
(9) ブレオマイシン誘発性間質性肺炎モデルマウスにおける $\gamma\delta$ T細胞の機能解析	141
担当責任者	後藤大輔 (筑波大学医学医療系内科)
協力者	瀬川誠司、飯塚 晃、松本 功、住田孝之
業務主任者	尹 浩信

(10) 強皮症の血管病変形成における Pentraxin 3 (PTX3) の役割	153
担当責任者	桑名正隆 (日本医科大学大学院医学研究科アレルギー-膠原病内科)
協力者	白井悠一郎
業務主任者	尹 浩信
4、強皮症の活動性、予後予測因子の抽出	
(1) 当科における限局性強皮症を伴う全身性強皮症の臨床的検討	165
担当責任者	石川 治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者	土岐 清香、茂木精一郎、山中 正義
業務主任者	尹 浩信
(2) 当科における抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体陽性の全身性強皮症の検討	171
担当責任者	石川 治 (群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学)
協力者	石淵隆広、土岐清香、山中正義、茂木精一郎
業務主任者	尹 浩信
(3) 抗 RNA ポリメラーゼ抗体陽性強皮症患者の悪性腫瘍および腎クリーゼの合併率の検討	176
研究協力者	小寺雅也 (独立行政法人地域医療機能推進機構中京病院皮膚科)
協力者	稲葉由季、田中義人、稲坂 優、菅原京子、伊藤有美、堀澤七恵
業務主任者	尹 浩信
(4) 抗 RNA ポリメラーゼⅢ抗体陽性全身性強皮症患者における悪性腫瘍の検討	184
担当責任者	竹原和彦 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学)
協力者	濱口儒人、松下貴史、小寺雅也、白田俊和
担当責任者	藤本 学
業務主任者	尹 浩信
(5) 膠原病患者で同定された新規抗 160kDa 抗体、抗 Scaffold attachment factor B 抗体についての検討	190
担当責任者	竹原和彦 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学)
協力者	竹内明子、松下貴史、濱口儒人
業務主任者	尹 浩信
(6) 全身性強皮症の手指関節可動域とストレッチ単独の効果	195
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)
担当責任者	竹原和彦、長谷川稔、藤本 学
協力者	大畠幸恵、八幡徹太郎、染矢富士子、濱口儒人、松下貴史
業務主任者	尹 浩信
(7) nab-パクリタキセル(アブラキサン®)による乳癌術前療法後に強皮症様皮膚硬化を来した1例	202
担当責任者	藤本 学 (筑波大学医学医療系皮膚科)
協力者	沖山奈緒子
業務主任者	尹 浩信

(8) 抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性の小児限局性強皮症の1例	206
担当責任者	竹原和彦 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学)
協力者	清水恭子、松下貴史、濱口儒人
業務主任者	尹 浩信

5、新規治療開発

(1) 強皮症合併間質性肺疾患に対するシクロホスファミドパルス療法の効果予測因子に関する検討	209
担当責任者	佐藤伸一 (東京大学医学部附属病院皮膚科)
担当責任者	浅野善英
協力者	吉崎 歩、住田隼一、中村洸樹、山下尚志、三枝良輔、市村洋平、高橋岳浩、遠山哲夫、谷口隆志
業務主任者	尹 浩信
(2) ヒト型化抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) の全身性強皮症に対する影響を探索する無作為比較多施設試験について	215
担当責任者	熊ノ郷淳 (大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器免疫アレルギー内科)
協力者	嶋 良仁
業務主任者	尹 浩信
(3) 早期強皮症に対する生物学的製剤の使用経験	216
担当責任者	高橋裕樹 (札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ内科学講座)
協力者	山本元久、鈴木知佐子
業務主任者	尹 浩信
(4) 難治性皮膚潰瘍に対して多血小板血漿療法が奏功した全身性強皮症の2例	222
業務主任者	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)
担当責任者	神人正寿
研究協力者	牧野貴充
協力者	梶原一亨、金丸 央
(5) 全身性強皮症の皮膚硬化に対する紫外線療法	225
担当責任者	森田明理 (名古屋市立大学大学院医学研究科加齢・環境皮膚科学)
協力者	新谷洋一、村松伸之介、加藤裕史
業務主任者	尹 浩信
(6) 境界域肺高血圧症における早期介入の意義に関する考察	228
研究協力者	波多野将 (東京大学医学部附属病院循環器内科)
協力者	牧 尚孝、稲葉敏郎、八尾厚史、絹川弘一郎
担当責任者	浅野善英、佐藤伸一
協力者	小室一成
業務主任者	尹 浩信

6、iPS 細胞を用いたプロジェクト

(1) 強皮症患者からの iPS 細胞の樹立	237
担当責任者	江良沢実 (熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野)
業務主任者	尹 浩信

7、革新的医薬品開発プロジェクト

- (1) プレオマイシン誘導性皮膚硬化モデルマウスにおける
リゾホスファチジン酸受容体 (LPA_{1,3}) 拮抗薬の抗線維化効果の検討 242
- 担当責任者 山本俊幸 (福島県立医科大学医学部皮膚科)
協力者 大橋威信
業務主任者 尹 浩信
- (2) マウス皮膚硬化型慢性 GVHD モデルにおける Syk 阻害剤の有効性についての検討 ... 248
- 担当責任者 竹原和彦 (金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学)
担当責任者 藤本 学、長谷川稔
協力者 松下貴史、濱口儒人
業務主任者 尹 浩信
- (3) 強皮症マウスモデルにおける抗 CX3CL1 抗体治療の有用性の検討 255
- 担当責任者 長谷川稔 (福井大学医学部感覚運動医学講座皮膚科学)
協力者 Vu Huy Luong、知野剛直、徳力 篤、久保井良和、待永明仁、
小笠原秀晃、村本賢三
業務主任者 尹 浩信
- (4) 抗線維化活性をもつ人工化合物の創製研究 263
- 担当責任者 大塚雅巳 (熊本大学大学院生命科学研究部生体機能分子合成学)
業務主任者 尹 浩信

III. 学会等発表実績 267

強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
業 務 主 任 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
担 当 責 任 者	浅野 善英	東京大学医学部附属病院皮膚科	講師
	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学	教授
	江良 択実	熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野	教授
	大塚 雅巳	熊本大学大学院生命科学研究部生体機能分子合成学	教授
	岡 晃	東海大学総合医学研究所	講師
	川口 鎮司	東京女子医科大学リウマチ科	臨床教授
	熊ノ郷 淳	大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器免疫アレルギー内科学	教授
	桑名 正隆	日本医科大学大学院医学研究科アレルギー膠原病内科	教授
	後藤 大輔	筑波大学医学医療系内科	准教授
	佐藤 伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科	教授
	神人 正寿	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学	准教授
	竹原 和彦	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	教授
	長谷川 稔	福井大学医学部感覚運動医学講座皮膚科学	教授
	藤本 学	筑波大学医学医療系皮膚科	教授
	森田 明理	名古屋市立大学大学院医学研究科加齢・環境皮膚科学	教授
山本 俊幸	福島県立医科大学医学部皮膚科	教授	
研 究 協 力 者	小寺 雅也	独立行政法人地域医療機能推進機構中京病院皮膚科	部長
	高橋 裕樹	札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ内科学講座	准教授
	田中 住明	北里大学医学部膠原病・感染内科学	診療准教授
	土屋 尚之	筑波大学医学医療系生命医科学域分子遺伝疫学	教授
	波多野 将	東京大学医学部附属病院循環器内科	助教
	牧野 貴充	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学	講師
	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. 委託業務成果報告（総括）

厚生労働科学研究委託費（難治性疾患実用化研究事業）

委託業務成果報告（総括）

強皮症の病態解明および革新的医薬品開発の研究

業務主任者	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
担当責任者	浅野 善英	東京大学医学部附属病院皮膚科	講師
担当責任者	石川 治	群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学	教授
担当責任者	江良 択実	熊本大学発生医学研究所幹細胞誘導分野	教授
担当責任者	大塚 雅巳	熊本大学大学院生命科学研究部生体機能分子合成学	教授
担当責任者	岡 晃	東海大学総合医学研究所	講師
担当責任者	川口 鎮司	東京女子医科大学リウマチ科	臨床教授
担当責任者	熊ノ郷 淳	大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器免疫アレルギー-内科学	教授
担当責任者	桑名 正隆	日本医科大学大学院医学研究科アレルギー-膠原病内科	教授
担当責任者	後藤 大輔	筑波大学医学医療系内科	准教授
担当責任者	佐藤 伸一	東京大学医学部附属病院皮膚科	教授
担当責任者	神人 正寿	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学	准教授
担当責任者	竹原 和彦	金沢大学医薬保健研究域医学系皮膚科学	教授
担当責任者	長谷川 稔	福井大学医学部感覚運動医学講座皮膚科学	教授
担当責任者	藤本 学	筑波大学医学医療系皮膚科	教授
担当責任者	森田 明理	名古屋市立大学大学院医学研究科加齢・環境皮膚科学	教授
担当責任者	山本 俊幸	福島県立医科大学医学部皮膚科	教授
研究協力者	小寺 雅也	独立行政法人地域医療機能推進機構中京病院皮膚科	部長
研究協力者	高橋 裕樹	札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ内科学講座	准教授
研究協力者	田中 住明	北里大学医学部膠原病・感染内科学	診療准教授
研究協力者	土屋 尚之	筑波大学医学医療系生命医科学域分子遺伝疫学	教授
研究協力者	波多野 将	東京大学医学部附属病院循環器内科	助教
研究協力者	牧野 貴充	熊本大学大学院生命科学研究部皮膚病態治療再建学	講師
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	作業療法士

研究要旨

強皮症の主要病態は、①免疫系の活性化、②線維芽細胞の異常、③血管障害である。これらの観点から病因の解明を目指す、これまで3つの病態を一元的に説明しうる疾患モデルは見いだされ

ていない。本研究では、過去の班研究で強皮症の線維化と血管障害への関与が明らかとなった転写因子 Fli1 に注目して作成された病態の一元化モデルを用いて Fli1 の強皮症病態への関与を T 細胞、B 細胞、マクロファージ、血管内皮細胞などとの関連性から解析する。また新規治療薬のシーズを探索する目的で、従来から使用されてきたブレオマイシン線維化モデルマウス、tight-skin mouse、Fli1 に注目して作成された病態の一元化モデルを用いて、効果が期待される新規薬剤の有効性をスクリーニングする。

過去の班研究の間に genome-wide association study (GWAS) を行うため抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性例の DNA サンプルの収集を行ってきた (300 例)。本研究では GWAS の解析を進め、疾患感受性遺伝子を同定するとともに、重症化の危険因子、予後関連因子を明らかにしたい。これによって、新たな病態モデルが作成できるだけでなく、治療の新たなターゲットも同定できる可能性が高い。次に 2002 年に開始された重症型強皮症早期例とその血清の登録・経過観察 (レジストリ) 事業を継続し、活動性や予後と関連する因子などを解析する。これにより早期診断された症例のうち早期治療を行うべき症例が抽出可能となり、効果が期待される新規薬剤の有効性を確認する際の対象患者が同定できる。

また従来より進めてきた「希少難治性疾患患者由来 iPS 細胞バンク」で確立した強皮症患者 iPS 細胞を、通常では得ることができない強皮症患者血管内皮細胞・樹状細胞等に分化誘導し、これらの細胞の強皮症病態への関与を解析するとともに、これらの細胞を用いて効果が期待される新規薬剤の有効性をスクリーニングする。

A. 研究目的

強皮症は膠原病の中でも予後が悪く、特に難治性である。本症の病因・病態を解明し、それに基づいて革新的な医薬品を開発する。

クロファージ、血管内皮細胞などとの関連性から解析。(浅野班員)

- Fli1 をターゲットとした革新的医薬品の開発：革新的医薬品の Fli1 機能への影響を解析。(尹班長、浅野班員、神人班員、大塚班員)

B. 研究方法

<強皮症病態の一元化モデルの作成>

- 転写因子 Fli1 異常が強皮症の血管障害や線維化と関連している可能性が過去の班研究にて明らかにされ、Fli1 による一元化モデルを作成した。本研究班ではこれをさらに発展させて、Fli1 の強皮症病態への関与を T 細胞、B 細胞、マ

<GWAS プロジェクト>

- GWAS による強皮症感受性遺伝子の同定：抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性 300 例からの DNA サンプルを収集した。東海大学ゲノム多様性解析センター岡班員を中心に解析中。(岡班員、尹班長を中心に全班員)

<その他の病因・病態解明プロジェクト>

- ・ 強皮症における免疫担当細胞（B細胞、制御性B細胞、T細胞）による線維化のメカニズムの解明。（佐藤班員、藤本班員）
- ・ B細胞シグナル伝達物質（Syk, Btk）の強皮症病態への関与の検討 - （藤本班員）
- ・ 強皮症病態における制御性 B 細胞の関与の検討及び制御性 B 細胞移入療法の開発（藤本班員）
- ・ 自然免疫（Toll-like receptor、1型インターフェロンなど）による線維化メカニズムの解明。（浅野班員）
- ・ 強皮症由来線維芽細胞による線維化のメカニズムの解明、抗線維化作用が期待される薬剤の有効性の検討。-平成 26～28 年（尹班長、川口班員、石川班員、神人班員）
- ・ 血管内皮前駆細胞の異常のメカニズムの解明、血管内皮前駆細胞動員作用が期待される薬剤の有効性の検討。（桑名班員）
- ・ 強皮症の動物モデルにおいて、効果が期待される新規薬剤の有効性をスクリーニングする。（浅野班長、山本班員を中心に全班員）

<強皮症の活動性、予後予測因子の抽出>

2002 年に開始された重症型強皮症早期例・血清の登録および経過観察プロジェクトを継続する。過去の班研究による予備実験にて MCP-1 が活動性を反映する有力候補として同定された。本研究では、多数例にて確認することと、予後や治療の反応性と関連

する他の因子の抽出などを行う。

<新規治療開発>

- ・ 肺線維症に対するシクロホスファミド療法の後療法として、既存薬のミゾリビンの有効性について検討する。
- ・ その他、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も倫理面への配慮を行った上で有効性を検証する。①他剤無効の皮膚硬化に対するシクロホスファミド・パルス療法、②皮膚硬化・肺線維症に対する抗 CD20 抗体（リツキシマブ）、③血管病変・肺高血圧症に対するシルデナフィル、④エンドセリン受容体拮抗薬（ボセンタン）による皮膚潰瘍の予防、⑤線維化に対する抗 IL-6R 抗体（トシリズマブ）、⑥線維化、血管病変に対するイマチニブなどについて検討する。
- ・ 前述したような、動物実験で有効であることが示された薬剤については倫理面に十分に配慮した上で臨床試験を行なう。

<iPS 細胞を用いたプロジェクト>

- ・ 従来より進めてきた「希少難治性疾患患者由来 iPS 細胞バンク」で確立した強皮症患者 iPS 細胞を、通常では得ることができない強皮症患者血管内皮細胞・樹状細胞に分化誘導し、血管内皮細胞・樹状細胞の強皮症病態への関与を解析する。（尹班長、江良班員、神人班員）
- ・ 強皮症患者 iPS 細胞由来強皮症患者血管内皮細胞・樹状細胞を用いて効果が期待される新規薬剤の有効性をスクリー

ニングする。(尹班長、江良班員、神人班員)

<革新的医薬品開発プロジェクト>

- ・ 先進的創薬技術を用いた Fli1 をターゲットとした革新的医薬品の開発(大塚班員)
- ・ 強皮症の病因に関与すると考えられている TGF- β 情報伝達に関与する物質をターゲットとする、先進的創薬技術を用いた革新的医薬品の開発(大塚班員)
- ・ 本研究で同定された治療の新たなターゲットに対する、先進的創薬技術を用いた革新的医薬品の開発(大塚班員)

C. D. 研究結果と考察

<強皮症病態の一元化モデルの作成>

Fli1 による強皮症病態の一元化モデルを作成した。その詳細を検討するとともに、Rho キナーゼ阻害薬ファスジルの Fli1 による強皮症病態の一元化モデルに対する作用を検討した。ファスジルは線維芽細胞に直接作用して抗線維化作用を示すほか、炎症抑制作用や血管異常を改善する作用を有することが明らかとなり、同薬は全身性強皮症の疾患修飾薬となりうる可能性が示唆された。(浅野班員、佐藤班員)

<GWAS プロジェクト>

全身性強皮症感受性遺伝子の検討に関しては次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析が行われ、合計 40 の候補遺伝子が同定され、この候補遺伝子にはコラーゲン、細胞外マトリックスならびに組織の線維化

に関与する遺伝子が含まれていた。(岡班員)

また日本人全身性強皮症患者で初めての GWAS を行い、ヨーロッパ人での結果とのメタ解析を行い、GWAS 有意水準を満たす新規領域 1 つ、示唆的な関連を満たす新規領域 2 つを同定した。(寺尾担当責任者)

さらに免疫グロブリン様受容体 LILRA3 欠失多型について検討し、LILRA3 欠失多型と抗トポイソメラーゼ I 抗体陽性全身性強皮症群との関連が示された。(土屋担当責任者)

<その他の病因・病態解明プロジェクト>

全身性強皮症の病因・病態解明に関しても様々な研究が行われた。p38 MAPK の全身性強皮症の皮膚線維化、TGF- β 過剰発現への関与(竹原班員、尹班長)、全身性強皮症の皮膚線維化における EBI3 の関与(尹班長、神人班員)、エンドセリン及びエンドセリン受容体の全身性強皮症の皮膚線維化への関与(川口班員)、TET の全身性強皮症の病態への関与(石川班員)、miR-196a の発現低下と全身性強皮症の皮膚線維化への関与(尹班長、神人班員)、long non-coding RNA を解析し中でも全身性強皮症の皮膚で過剰発現している TSIX の皮膚線維化への関与(尹班長、神人班員)、全身性強皮症の皮膚で過剰発現している、TNF 受容体に対するアンタゴニスト作用を持つ progranulin の皮膚線維化に対する関与(浅野班員・佐藤班員)、転写因子 IRF5 の全身性強皮症の線維化、血管障害、炎症・免疫異常への関与(浅野班員・佐藤班員)、 $\gamma\delta$ T 細胞サブセ

ットの全身性強皮症間質性肺病変への関与（後藤班員）を示すことが出来た。

<強皮症の活動性、予後予測因子の抽出>

全身性強皮症の活動性、予後予測因子の抽出に関しても様々な研究が行われた。強皮症合併間質性肺疾患に対するシクロホスファミドパルス療法の効果予測因子を検討し、治療前%DLco 比較的高値ないし治療前 SP-D、KL-6、CRP 比較的低値の症例でシクロホスファミドパルス療法の有効性が高いことが示された。（浅野班員・佐藤班員）また fibroblast growth factor-2 抑制作用を持つ pentraxin 3 の血中濃度は手指潰瘍、肺動脈性肺高血圧症を有する全身性強皮症患者で上昇し、将来の手指潰瘍出現の予測因子として有用であることが示された。（桑名班員）抗 RNA ポリメラーゼ III 抗体の臨床的意義も解析され、抗 RNA ポリメラーゼ III 抗体と皮膚硬化の範囲、腎クリーゼ合併、悪性腫瘍合併との相関が示された。（石川班員、小寺担当責任者、竹原班員、藤本班員、尹班長）新規抗 160kDa 抗体、抗 Scaffold attachment factor B 抗体の臨床的意義を検討し、間質性肺病変のマーカーとなることが示された。（竹原班員、尹班長）

<新規治療開発>

ヒト型化抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) の無作為比較他施設試験が行われ、ヒト型化抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) の投与にて統計学的有意差は認められないものの皮膚硬化は改善した。（熊ノ郷班員）ま

たヒト型化抗 IL-6 受容体抗体 (tocilizumab) およびアダリムマブにて線維化病変の進行が抑制された症例も明らかとした。（高橋担当責任者）

全身性強皮症の難治性皮膚潰瘍に対する多血小板血漿療法の有効性を確立した。（尹班長、神人班員、牧野担当責任者）さらに全身性強皮症の難治性皮膚潰瘍に対するボセンタンの有効性を示した。（森田担当責任者）

境界域肺高血圧法における早期介入の意義を確立し（波多野担当責任者）、リハビリの手指関節可動域改善について明らかとした。（竹原班員、藤本班員、長谷川班員、麦井担当責任者）

<iPS 細胞を用いたプロジェクト>

全身性強皮症患者皮膚から iPS 細胞を確立し、全身性強皮症 iPS 細胞から線維芽細胞へ分化させ、全身性強皮症皮膚線維芽細胞と比較検討し、全身性強皮症 phenotype を有しているか検討した。（江良班員、神人班員、尹班長）

<革新的医薬品開発プロジェクト>

全身性強皮症に対する革新的医薬品開発を目的として、ブレオマイシン誘導性皮膚硬化モデルマウスを用いてリゾフォスファチジン酸受容体拮抗薬 (Ki16425) の有効性を明らかとした。（山本班員）

皮膚硬化型慢性 GVHD モデルを用いて Syk 阻害剤 R788 の有効性を明らかとした。（竹原班員、藤本班員、長谷川班員、尹班長）

レオマイシン誘導性皮膚硬化モデルマウスを用いて抗 CX3CL1 抗体の有効性を明らかにした。(長谷川班員)

ピリジンの 2 位、4 位、6 位に各種の置換基を導入した種々の化合物を合成し、抗線維化化合物 X を発見した。(大塚班員)

E. 結論

Fli1 による強皮症病態の一元化モデルを完成し、その詳細を検討するとともに、新規薬剤の強皮症病態への作用を検討することができた。全身性強皮症感受性遺伝子の検討を進め、合計 40 の候補遺伝子が同定された。全身性強皮症の病因・病態解明に関しても様々な研究が行われ、全身性強皮症の病因・病態が飛躍的に明らかとなった。全身性強皮症の活動性、予後予測因子の抽出に関しても様々な研究が行われ、多くの活動性、予後予測因子を明らかにすることが出来た。既存薬を用いた新規治療開発も進み、有望な治療が種々明らかとなった。さらには全身性強皮症患者皮膚から iPS 細胞を確立し、その詳細を検討し、革新的医薬品開発を進めることも出来た。

F. 健康危険情報

なし

G. 文献

- Asano Y. Future treatments in systemic sclerosis. *J Dermatol*; 37: 54-70. 2010
- Storzaker RA, Biswas PS, Gupta S, Song L, Bhagat G, Pernis AB. Administration of

fasudil, a ROCK inhibitor, attenuates disease in lupus-prone NZB/W F1 female mice.

Lupus; 21: 656-61. 2012

- Ma Z, Zhang J, Du R, Ji E, Chu L. Rho kinase inhibition by fasudil has anti-inflammatory effects in hypercholesterolemic rats. *Biol Pharm Bull*; 34: 1684-9. 2011
- Mouchaers KT, Schlij I, de Boer MA, Postmus PE, van Hinsbergh VW, van Nieuw Amerongen GP, et al. Fasudil reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: comparison with bosentan and sildenafil. *Eur Respir J*; 36: 800-7. 2010
- Ishimaru K, Ueno H, Kagitani S, Takabayashi D, Takata M, Inoue H. Fasudil attenuates myocardial fibrosis in association with inhibition of monocyte/macrophage infiltration in the heart of DOCA/salt hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*; 50: 187-94. 2007
- Zhou H, Li YJ, Wang M, Zhang LH, Guo BY, Zhao ZS, et al. Involvement of RhoA/ROCK in myocardial fibrosis in a rat model of type 2 diabetes. *Acta Pharmacol Sin*; 32: 999-1008. 2011
- Hasegawa M, Sato S, Takehara K. Augmented production of chemokines (monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1alpha (MIP-1alpha) and MIP-1beta) in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP-1alpha may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol*; 117: 159-65. 1999

- Hasegawa M, Fujimoto M, Kikuchi K, Takehara K. Elevated serum levels of interleukin 4 (IL-4), IL-10, and IL-13 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*; 24: 328-32. 1997
- Radstake TR, van Bon L, Broen J, Hussiani A, Hesselstrand R, Wuttge DM, et al. The pronounced Th17 profile in systemic sclerosis (SSc) together with intracellular expression of TGFbeta and IFNgamma distinguishes SSc phenotypes. *PLoS One*; 4: e5903. 2009
- Gourh P, Arnett FC, Assassi S, Tan FK, Huang M, Dieckman L, et al. Plasma cytokine profiles in systemic sclerosis: associations with autoantibody subsets and clinical manifestations. *Arthritis Res Ther*; 11: R147. 2009
- Matsushita T, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Takehara K, Sato S. Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis: association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis. *J Rheumatol*; 33: 275-84. 2006
- Okamoto Y, Hasegawa M, Matsushita T, Hamaguchi Y, Huu DL, Iwakura Y, et al. Potential roles of interleukin-17A in the development of skin fibrosis in mice. *Arthritis Rheum*; 64: 3726-35. 2012
- Nakashima T, Jinnin M, Yamane K, Honda N, Kajihara I, Makino T, et al. Impaired IL-17 signaling pathway contributes to the increased collagen expression in scleroderma fibroblasts. *J Immunol*; 188: 3573-83. 2012
- Asano Y, Bujor AM, Trojanowska M. The impact of Fli1 deficiency on the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*; 59: 153-62. 2010
- Asano Y, Stawski L, Hant F, Highland K, Silver R, Szalai G, et al. Endothelial Fli1 deficiency impairs vascular homeostasis: a role in scleroderma vasculopathy. *Am J Pathol*; 176: 1983-98. 2010
- Bossini-Castillo L, Martin JE, Broen J, et al.: A GWAS follow-up study reveals the association of the IL12RB2 gene with systemic sclerosis in Caucasian populations. *Hum Mol Genet*. 2012 15;21(4):926-33.
- Oka A, Mabuchi T, Ozawa A, Inoko H.: Current understanding of human genetics and genetic analysis of psoriasis. *J Dermatol*. 2012;39(3):231-41.
- Terao C, Ohmura K, Kawaguchi Y, Nishimoto T, Kawasaki A, Takehara K, Furukawa H, Kochi Y, Ota Y, Ikari K, Sato S, Tohma S, Yamada R, Yamamoto K, Kubo M, Yamanaka H, Kuwana M, Tsuchiya N, Matsuda F, Mimori T. PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum*. 2013 Feb;65(2):472-80.
- 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010;467:1061-1073.
- Allanore Y, Saad M, Dieudé P, Avouac J, Distler JH, Amouyel P, Matucci-Cerinic M,

- Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Hachulla E, Cusi D, Wichmann HE, Wipff J, Lambert JC, Hunzelmann N, Tiev K, Caramaschi P, Diot E, Kowal-Bielecka O, Valentini G, Mouthon L, Czirják L, Damjanov N, Salvi E, Conti C, Müller M, Müller-Ladner U, Ricciari V, Ruiz B, Cracowski JL, Letenneur L, Dupuy AM, Meyer O, Kahan A, Munnich A, Boileau C, Martinez M. Genome-wide scan identifies TNIP1, PSORS1C1, and RHOB as novel risk loci for systemic sclerosis. *PLoS Genet*. 2011 Jul;7(7):e1002091.
- Raychaudhuri S, Plenge RM, Rossin EJ, Ng AC; International Schizophrenia Consortium, Purcell SM, Sklar P, Scolnick EM, Xavier RJ, Altshuler D, Daly MJ. Identifying relationships among genomic disease regions: predicting genes at pathogenic SNP associations and rare deletions. *PLoS genetics* 2009;5:e1000534.
 - Hirayasu K, Ohashi J, Kashiwase K, Takanashi M, Satake M, et al. Long-term persistence of both functional and non-functional alleles at the leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) locus suggests balancing selection. *Hum Genet* 2006; 119: 436-443.
 - Koch S, Goedde R, Nigmatova V, Epplen JT, Müller N, et al. Association of multiple sclerosis with ILT6 deficiency. *Genes Immun* 2005; 6: 445-447.
 - Hirayasu K, Ohashi J, Tanaka H, Kashiwase K, Ogawa A, et al. Evidence for natural selection on leukocyte immunoglobulin-like receptors for HLA class I in Northeast Asians. *Am J Hum Genet* 2003; 82: 1075-1083.
 - Kabalak G, Dobberstein SB, Matthias T, Reuter S, The YH, et al. Association of immunoglobulin-like transcript 6 deficiency with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2923-2925.
 - Du Y, Cui Y, Liu X, Hu F, Yang Y, et al. Contribution of functional LILRA3, but not functional LILRA3, to sex bias in susceptibility and severity of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2014; 66: 822-830.
 - Du Y, Su Y, He J, Yang Y, Shi Y, et al. Impact of the leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) on susceptibility and subphenotypes of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2014; e-pub ahead of print 6 June 2014; doi:10.1136/annrheumdis-2013-204441/
 - Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35-42.
 - Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Inoko H, Tsuji K. The HLA-DR and DQ genes control the autoimmune response to DNA topoisomerase I in systemic sclerosis (scleroderma). *J Clin Invest* 1993; 92: 1296-1301.
 - Low HZ, Reuter S, Topperwien M, Dankenbrink N, Peest D, et al. Association of the LILRA3 deletion with B-NHL and functional characterization of the

- immunostimulatory molecule. PLoS ONE 2013; 8: e81360.
- Wastowski IJ, Sampaio-Barros PD, Amstalden EM, Palomino GM, Marques-Neto JF, et al. HLA-G expression in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2009; 36:1230-1234.
 - Toshiyuki Yamamoto. Characteristics of Animal Models for Scleroderma. *Current Rheumatology Reviews*;2005:1:101-109
 - Herlaar E, Brown Z. p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease. *Nature Reviews Drug Discovery*. 1999;2: 717-72
 - Le Huu, D, Matsushita T, et al. Donor-derived regulatory B cells are important for suppression of murine sclerodermatous chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2013;121:3274–83.
 - Sato M, Shegogue D. Role of p38 MAPK in transforming growth factor beta stimulation of collagen production by scleroderma and healthy dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol*. 2002;118:704-11.
 - Hironobu I, Kenichi Y, et al. Increased Phosphorylation and Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase p38 in Scleroderma Fibroblasts. *J Invest Dermatol*;2005:125:247–55
 - Aouadi, M, Binetruy, B, et al. Role of MAPKs in development and differentiation: lessons from knockout mice. *Biochimie*;2006:88:1091-8
 - Cuenda, A. Rousseau, S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim Biophys Acta*;2007: 1773:1358-75
 - Damjanov, N, Kauffman, R. S, et al. Efficacy, pharmacodynamics, and safety of VX-702, a novel p38 MAPK inhibitor, in rheumatoid arthritis: results of two randomized, double-blind, placebo-controlled clinical studies. *Arthritis Rheum*;2009:60:1232-41
 - Goldstein, D. M, Kuglstatter, A, et al. Selective p38alpha inhibitors clinically evaluated for the treatment of chronic inflammatory disorders. *Med Chem*;2010;53:2345-53
 - Le Huu, D, Matsushita, T, et al. FTY720 ameliorates murine sclerodermatous chronic graft-versus-host disease by promoting expansion of splenic regulatory cells and inhibiting immune cell infiltration into skin. *Arthritis Rheum*;2013:65:1624-35
 - Kolosova, I, Nethery, D, et al. Role of Smad2/3 and p38 MAP kinase in TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition of pulmonary epithelial cells. *J Cell Physiol*;2011:226:1248-54
 - Le Huu, D, Kimura, H, Mutsumi D, et al. Blockade of Syk ameliorates the development of murine sclerodermatous chronic graft-versus-host disease. *J Dermatol Sci*;2014:74:214-21
 - Saklatvala, J. The p38 MAP kinase pathway as a therapeutic target in inflammatory disease. *Curr Opin Pharmacol*;2004:4:372-7
 - シグナル伝達研究最前線 2012 実験医学

- 增刊;2012;30:72-9
- Vignali DA, Kuchroo VK. IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nat Immunol* 2012;13(8):722-8
 - Takeda A, Hamano S, Yamanaka A, et al. Cutting edge: role of IL-27/WSX-1 signaling for induction of T-bet through activation of STAT1 during initial Th1 commitment. *J Immunol* 2003;170(10):4886-90
 - Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, et al. Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 1993;260(5107):547-9
 - Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441(7090):235-8
 - Ma J, Xie LZ. Eukaryotic expression and biological activity of human interleukin-35. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2013;35(6):618-22
 - Yamamoto T, Takagawa S, Katayama I, et al. Animal model of sclerotic skin. I: Local injections of bleomycin induce sclerotic skin mimicking scleroderma. *J Invest Dermatol* 1999;112(4):456-62
 - Tanaka C, Fujimoto M, Hamaguchi Y, et al. Inducible costimulator ligand regulates bleomycin-induced lung and skin fibrosis in a mouse model independently of the inducible costimulator/inducible costimulator ligand pathway. *Arthritis Rheum* 2010;62(6): 1723-32
 - Marotta M, Martino G. Sensitive spectrophotometric method for the quantitative estimation of collagen. *Anal Biochem* 1985;150(1):86-90
 - Takehara K. Hypothesis: pathogenesis of systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2003;30(4): 755-9
 - Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007;450(7169):566-9
 - Neurath MF. IL-12 family members in experimental colitis. *Mucosal Immunol* 2008;1 Suppl 1:S28-30
 - Takeda A, Hasegawa E, Fukuhara T, et al. EB13 is pivotal for the initiation of experimental autoimmune uveitis. *Exp Eye Res* 2014;125:107-13
 - Ouyang H, Shi YB, Liu ZC, et al. Decreased interleukin 35 and CD4+EB13+ T cells in patients with active systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2014;348(2): 156-61
 - Seyerl M, Kirchberger S, Majdic O, et al. Human rhinoviruses induce IL-35-producing Treg via induction of B7-H1 (CD274) and sialoadhesin (CD169) on DC. *Eur J Immunol* 2010;40(2):321-9
 - Kempe S, Heinz P, Kokai E, et al. Epstein-barr virus-induced gene-3 is

- expressed in human atheroma plaques. *Am J Pathol* 2009;175(1):440-7
- Niedbala W, Wei XQ, Cai B, et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells. *Eur J Immunol.* 2007;37(11):3021-9
 - Nakashima Y, Jinnin M, Yamane K, et al. Impaired IL-17 signaling pathway contributes to the increased collagen expression in scleroderma fibroblasts. *J Immunol* 2012;188(8):3573-83
 - Apras S, Ertenli I, Ozbalkan Z, et al. Effects of oral cyclophosphamide and prednisolone therapy on the endothelial functions and clinical findings in patients with early diffuse systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2003; 48(8):2256-61
 - Pope JE, Bellamy N, Seibold JR, et al. A randomized, controlled trial of methotrexate versus placebo in early diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2001;44(6):1351-8
 - Hausteil UF. Systemic sclerosis-scleroderma. *Dermatol Online J* 2002;8(1):3
 - Kawaguchi Y et al. Increase endothelin-1 production in fibroblasts derived from patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.*1994; 53: 506-10.
 - Shi-wen X et al. Endothelin is a downstream mediator of profibrotic responses to transforming growth factor beta in human lung fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 4189-94.
 - Lagares D et al. Endothelin 1 contributes to the effect of transforming growth factor beta1 on wound repair and skin fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2010; 62: 878-89.
 - Lagares D et al. Endothelin 1 contributes to the effect of transforming growth factor beta1 on wound repair and skin fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2010; 62: 878-89.
 - Quintero-Ronderos, P. and G. Montoya-Ortiz, Epigenetics and autoimmune diseases. *Autoimmune Dis*, 2012. 2012: p. 593720.
 - Wu, H. and Y. Zhang, *Mechanisms and functions of Tet protein-mediated 5-methylcytosine oxidation.* *Genes Dev*, 2011. 25(23): p. 2436-52.
 - Luo, Y., et al., Systemic sclerosis: genetics and epigenetics. *J Autoimmun*, 2013. 41: p. 161-7.
 - Wang, Y., P.S. Fan, and B. Kahaleh, Association between enhanced type I collagen expression and epigenetic repression of the FLI1 gene in scleroderma fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 2006. 54(7): p. 2271-9.
 - Lei, W., et al., Abnormal DNA methylation in CD4+ T cells from patients with systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and dermatomyositis. *Scand J Rheumatol*, 2009. 38(5): p. 369-74.
 - Lian, X., et al., DNA demethylation of CD401 in CD4+ T cells from women with systemic sclerosis: a possible explanation for female susceptibility. *Arthritis Rheum*, 2012. 64(7): p.