

指定難病 “全身性強皮症” に光 — 新たな治療標的分子「フラクタルカイン」の発見 —

本研究成果のポイント：

- ◆ 膠原病の中で最も治療が難しく、治療法が確立されていない「全身性強皮症」の皮膚症状を抑制する抗体を発見した
- ◆ 全身性強皮症のみならず、皮膚や内臓で炎症、線維化（硬化）、血管障害を起こす疾患の治療薬の開発への貢献が期待される

ぜんしんせいきょうひしょう

全身性強皮症は、厚生労働省の指定難病で皮膚や内臓に炎症、線維化^(注1)（硬化）、血管障害^(注2)を生じ、皮膚が硬くなって関節が強くこわばったり、血管障害のため指に潰瘍ができたりする。膠原病^(注3)の一つでもあり、他の膠原病では有用な治療薬が開発されてきているが、本疾患ではいまだ有用な治療法が確立されていない。

我々は、本疾患の発症のきっかけになる CX3CL1（フラクタルカイン）という、患部への白血球の集中に関わる物質を阻害する抗体「抗 CX3CL1 抗体」が、全身性強皮症の皮膚の炎症、線維化、血管障害のいずれをも有意に抑制することをマウス実験で発見した。

その仕組みとしては、抗 CX3CL1 抗体が白血球の皮膚への浸潤を抑制し、線維化を進行させる TGF- β という細胞成長因子^(注4)の作用を阻害することを明らかにした。

CX3CL1 が全身性強皮症の新たな治療標的であるという今回の発見は、抗 CX3CL1 抗体は全身性強皮症患者の新規治療薬として期待されることを示した。また、全身性強皮症以外の線維化や血管障害をきたす疾患の治療としても有用な可能性のある画期的な知見であり、難病で苦しむ患者さんに治療を提供できるよう進展すべき研究成果である。

〈研究の背景と経緯〉

全身性強皮症（以下強皮症）は、日本で患者数30,000人以上と推定され、皮膚や内臓の炎症に引き続き、線維化と血管障害をきたす膠原病である（図1）。通常ほぼすべての患者に皮膚硬化と呼ばれる皮膚の線維化、そして寒冷刺激で指が白色、紫色などに変化するレイノー現象が認められる。また、一部の患者では肺、心臓、消化管、腎臓などにも線維化や血管病変をきたし、重症例では予後不良である。また、末梢循環障害による指の潰瘍や壊疽が高率に生じる。原因と発症の詳しい仕組みは不明であるが、血管内から組織に浸潤した白血球が TGF- β などの線維化を促進する分子を産生し、これを受けた線維芽細胞がコラーゲンなどの細胞外基質を過剰産生するために線維化が生じると推定されている。また、白血球が産生する分子は血管障害も引き起こすと考えられている。

関節リウマチなど他の膠原病では、それらの炎症抑制を目的とした抗体治療や分子標的薬などの新しい治療薬が次々と開発されてきている。しかし、強皮症ではこれまで多くの臨床試験が行われているが、線維化や血管障害を病態の主体とするためか、皮膚や肺の病変の有用性が証明されず、最も治療が難しい膠原病と考えられる。

これまで我々の研究で、強皮症患者の血液中では CX3CL1 の濃度が上昇しており、特に臨床で最も問題となる広範囲の皮膚硬化、間質性肺炎、指の潰瘍を有する症例で高値であることを明らかにしている。CX3CL1 は白血球などを動かす機能を持つケモカイン^(注5) という物質の一つだが、細胞接着分子としての役割も併せ持つユニークな性質があり、白血球が血管内から病変部の組織に浸潤する過程で重要な役割を發揮する（図2）。

前述のごとく、強皮症の線維化や血管障害が進行する過程では、組織への白血球の細胞浸潤が認められる。このため、強皮症患者で発現が亢進している CX3CL1 がその細胞浸潤に大きく関与していれば、それを阻害することで、炎症のみならず、線維化や血管障害も軽快するのではないかと考えた。このため、強皮症と似た皮膚症状をマウスに誘導し、CX3CL1 の機能を阻害する抗体（抗 CX3CL1 抗体）を投与してその有用性を検討した。

〈研究の内容〉

今回、強皮症の症状を再現するために、一般的なブレオマイシンという抗癌剤を背部に連日 28 日間皮下注射するマウスのモデルを使った。このモデルに抗 CX3CL1 抗体を投与して、コントロールの抗体を投与した群と比較した。

期待したとおり、抗体投与群ではコントロール抗体投与群に比べて、皮膚の線維化が有意に抑制された（図3）。また、線維化の進む過程での白血球の浸潤、特にマクロファージ^(注6) などの CX3CR1 (CX3CL1 の受容体) 発現細胞の浸潤が有意に減少していた（図4）。強皮症にみられるような皮膚の血管の破壊や減少も、抗 CX3CL1 抗体の投与により明らかに抑制された（図5）。なお、抗 CX3CL1 抗体投与による明らかな副作用は認められなかった。

この治療が他の皮膚線維化モデルでも有効かどうかを確認するために、TGF- β などを投与して皮膚に線維化を誘導した新生仔マウスでも検証した。このモデルでも抗 CX3CL1 抗体は皮膚硬化を有意に抑制（図6）し、新生仔であっても明らかな副作用を生じなかった。

さらに、抗 CX3CL1 抗体の線維化における作用機序を明らかにするために、細胞を用いた実験を行った。培養した健常人由来の皮膚線維芽細胞に TGF- β を添加し、コラー

ゲンなどの細胞外基質を産生させ、抗 CX3CL1 抗体を加えた。その結果、TGF- β のシグナル経路である Smad3 のリン酸化が抑制され、コラーゲンなどの細胞外基質の産生が有意に低下した。

〈今後の展開〉

抗 CX3CL1 抗体治療が、強皮症の皮膚の炎症、線維化、血管障害のいずれにも有用である可能性が示された。ただ、本研究は強皮症の皮膚の症状をめぐるものにとどまっており、本疾患のうち間質性肺炎などの内臓病変への効果は課題として残った。皮膚病変への効果をさらに確認するため、そして内臓病変の効果も検証するために、現在内臓病変も評価可能な別の強皮症動物モデルにおいて、抗体治療の有用性を検討している。

このような十分な動物実験の結果を踏まえ、今後は実際の強皮症患者の治療への展開を検討している。現在線維化を抑制する抗体治療薬はヒトの疾患で使用されておらず、本治療が強皮症のみならず、他の皮膚や内臓の線維化疾患の治療へ発展する可能性を有している。また、他の炎症性疾患や血管障害の治療薬としても有用な可能性があり、大きな発展性を有している。なお、本研究では CX3CL1-CX3CR1 経路の阻害が、線維芽細胞における TGF- β のシグナル経路を抑制することを初めて明らかにした。線維化機序の解明にもつながる新しい知見であり、その意義は大きい。

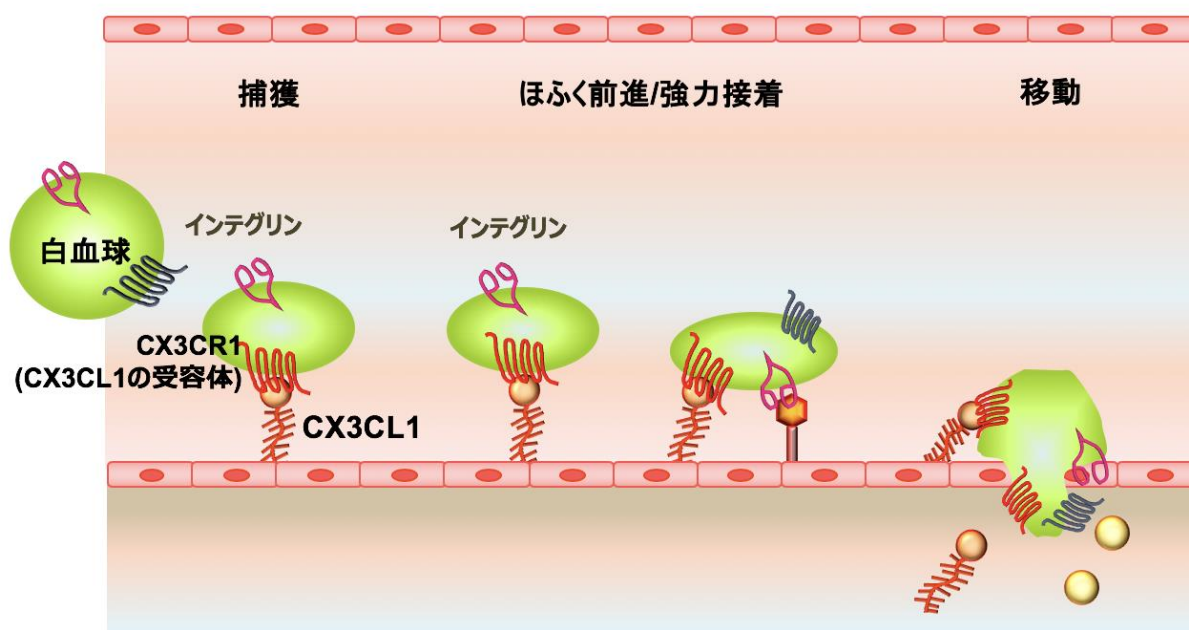
〈参考図〉

図 1：全身性強皮症の皮膚症状



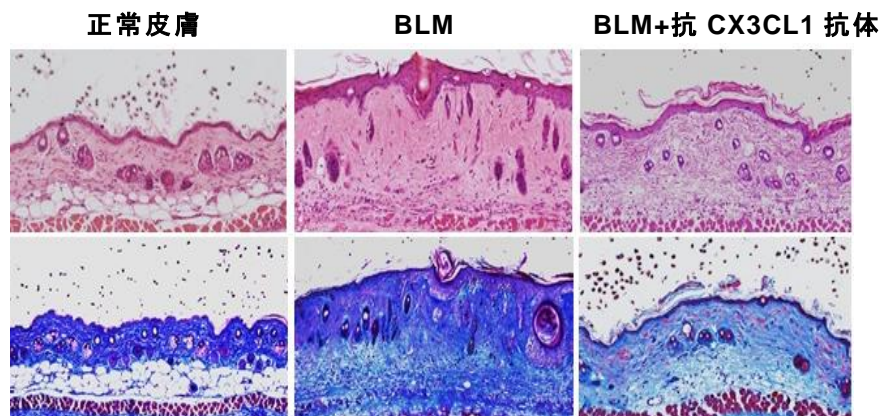
全身性強皮症は、写真のように皮膚が線維化で硬くなって光沢を帯びたり、皮膚硬化のために指などの関節が拘縮して曲げ伸ばしが困難になる。また、血管病変として指の先端などに難治性で痛みの強い潰瘍をしばしばきたしてくる。

図 2：CX3CL1（フラクタルカイン）の作用機序



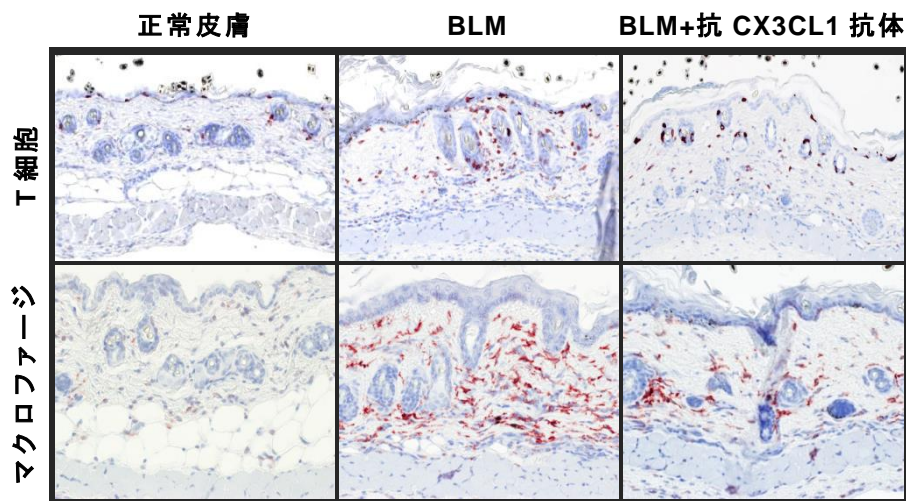
血管内を流れる白血球が、血管内から血管外の組織に過剰に浸潤することにより炎症が生じる。その過程において、血管内皮細胞に発現した CX3CL1 は、その受容体である CX3CR1 を発現した白血球を選択的にとらえて血管外へ透過させる。このため、CX3CR1 を発現するマクロファージなどの浸潤がみられる慢性炎症性疾患の病態形成に CX3CL1 が関与していると想定される。全身性強皮症では CX3CL1 の発現増加、皮膚や肺でのマクロファージの浸潤増加が認められるため、CX3CL1 の機能を阻害することで症状を抑制できるのではないかと考えた。

図 3 : 抗 CX3CL1 抗体治療は BLM で誘導した強皮症モデルの皮膚線維化を抑制する



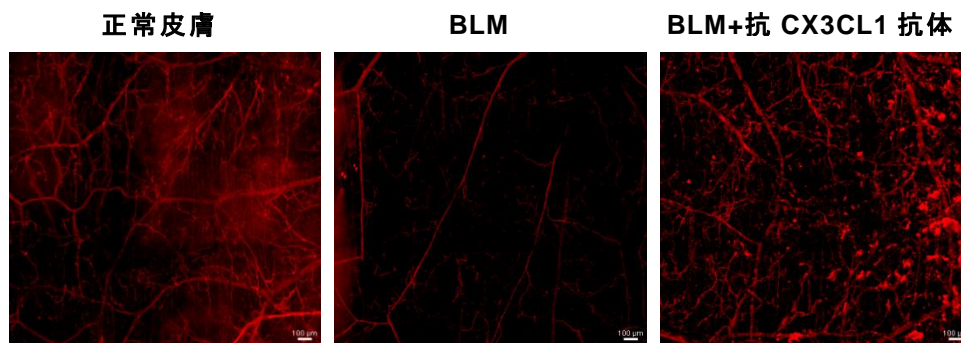
抗 CX3CL1 モノクローナル抗体を、全身性強皮症の皮膚硬化と同様の症状を誘導したマウスに投与して、その効果を検証した。ブレオマイシン (BLM) をマウスの背部皮下に 4 週間連日注射すると、皮膚に炎症と引き続いて線維化が誘導される。しかし、抗 CX3CL1 抗体を投与している場合には、線維化が有意に抑制された。上段は通常の HE 染色での病理組織像、下段は線維化したところが青色に染色されるマッソン・トリクローム染色の組織像を示す。

図 4 : 抗 CX3CL1 抗体治療は BLM による線維化に先行する皮膚の炎症を抑制する



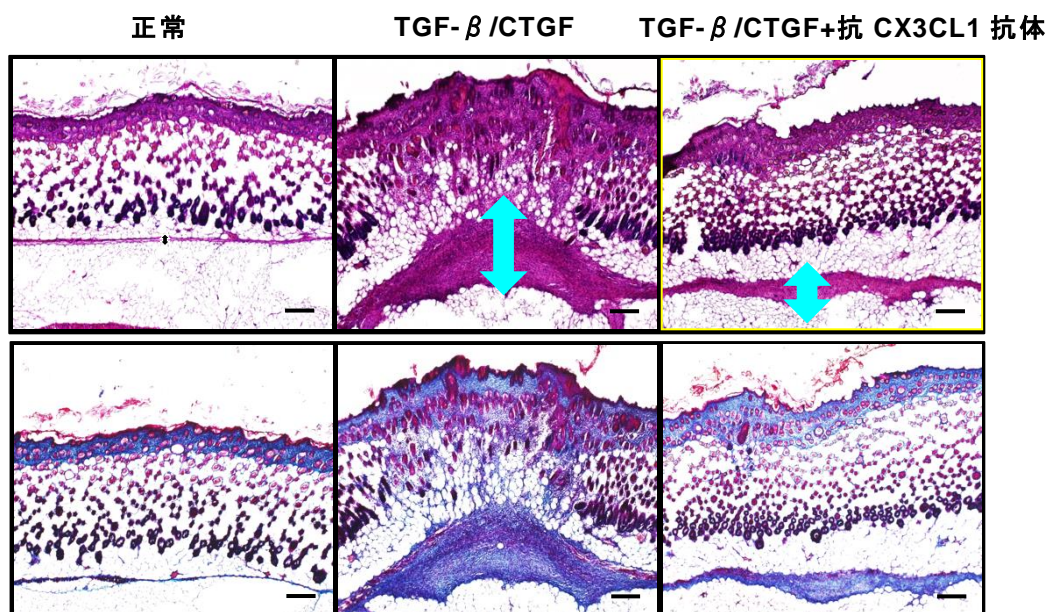
同じ強皮症モデルのマウスにおいて、線維化が完成する前の段階 (BLM 投与 2 週後) の炎症の程度を、皮膚における T 細胞やマクロファージを染色して検討した。BLM 投与によって注射部位の T 細胞やマクロファージ (褐色に染色されているもの) の皮膚への浸潤が増加した。しかし、抗 CX3CL1 抗体を投与している場合には、これらの炎症細胞が有意に減少した。

図 5 : 抗 CX3CL1 抗体治療は BLM 誘導性強皮症マウスモデルの血管障害を抑制する



同じ強皮症モデルのマウスにおいて、炎症や線維化だけでなく、血管障害が生じているか、またそれに対する治療効果を検討した。14 日目に皮膚を採取して透明化処理をした上で血管を染色し、皮膚の血管が赤色に見えるようにした。BLM 投与によってヒトの全身性強皮症のように血管が破壊されて減少していたが、抗 CX3CL1 抗体を投与している場合には血管の減少が抑制された。

図 6 : 抗 CX3CL1 抗体治療は成長因子で誘導した強皮症モデルの皮膚線維化も抑制する



抗体治療の効果が、BLM 注射モデルに限ったものでないことを確認するために、別の皮膚線維化モデルでも検討した。新生仔マウスの背部皮下に線維化を誘導する細胞成長因子である TGF- β を 3 日間、引き続いて CTGF を 4 日間注射すると線維化が誘導される。このモデルにおいても抗 CX3CL1 抗体は皮膚の線維化（矢印で示した部分）を有意に抑制した。上段は通常の HE 染色での病理組織像、下段は線維化したところが青色に染色されるマッソン・トリクローム染色の組織像を示す。

〈用語解説〉

（注1）線維化

各臓器を形成している結合組織が異常に増殖する現象。組織中の線維芽細胞が産生するコラーゲンなどの膠原線維（こうげんせんい）が過剰沈着することによって生じる。線維化は一旦生じると、もとの正常な組織には戻りにくいため、治療が最も難しい病態のひとつである。また、線維化が多臓器に生じる代表的な疾患が、全身性強皮症である。

（注2）血管障害

血管障害とは、血管の硬化、狭小化、炎症、血栓、出血など様々な病態の総称である。全身性強皮症の血管障害は、血管の壁が厚く硬くなって血管腔が狭小化することによって血流障害をきたす。また、寒冷刺激などで血管が攣縮して一時的な血流障害をきたし、手指などの色調が白色や紫色に変化するレイノー現象が認められる。指先への血流障害が顕著な場合は、指尖部に潰瘍を生じることがある。

（注3）膠原病

皮膚、関節、内臓臓器などの多臓器に慢性で難治性の炎症や血管障害をきたす疾患で、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、全身性強皮症、皮膚/多発性筋炎、シェーグレン症候群などが含まれる。自己免疫異常により生じると考えられているが、その病態は明らかではなく、厚労省の指定難病になっている疾患が多い。

（注4）細胞成長因子

細胞増殖因子とも呼ばれる。特定の細胞の増殖や分化を促進する内因性のタンパク質の総称で、栄養物質ではないもの。代表的な細胞増殖因子である TGF- β や CTGF は、線維芽細胞に作用すると線維芽細胞からコラーゲンなどの細胞外基質蛋白の産生を誘導することから、線維化の過程で中心的な役割を果たす。

（注5）ケモカイン

白血球などに作用してその遊走に働くサイトカイン（細胞から分泌される低分子のタンパク質）の一群のことで、炎症などの際の細胞浸潤過程において重要な役割を有する。各ケモカインに特異的な受容体を発現した細胞だけを選択的に遊走させる。

（注6）マクロファージ

白血球の1種であり、血管内の単球が血管外の臓器の組織内に入るとマクロファージに分化し、異物の貪食、様々なサイトカインの産生、他の細胞への作用などを介して炎症などの病態に関与する。全身性強皮症のような線維化疾患においては、TGF- β をはじめとする線維化を誘導する細胞成長因子やサイトカインを産生することにより、線維芽細胞からの膠原線維の産生を促進すると考えられている。

〈論文タイトル〉

“Inhibition of the Progression of Skin Inflammation, Fibrosis, and Vascular Injury by Blockade of the CX3CL1/CX3CR1 Pathway in Experimental Mouse Models of Systemic Sclerosis”

(日本語タイトル:「全身性強皮症のマウスモデルにおいて、CX3CL1/CX3CR1 経路の阻害は皮膚の炎症、線維化、血管障害の進行を抑制する」)

〈著者〉

Vu H. Luong, Akira Utsunomiya, Takenao Chino, Le H. Doanh, Takashi Matsushita, Takashi Obara, Yoshikazu Kuboi, Naoto Ishii, Akihito Machinaga, Hideaki Ogasawara, Wataru Ikeda, Tetsu Kawano, Toshio Imai, Noritaka Oyama, and Minoru Hasegawa

Vu Huy Luong (福井大学 大学院医学系研究科博士課程 学生)
宇都宮 慧 (福井大学 大学院医学系研究科博士課程 学生) (医員)
知野剛直 (福井大学 医学部 感覚運動医学講座 皮膚科学 助教)
Le Huu Doanh (ハノイ医科大学 皮膚科学)
松下貴史 (金沢大学医薬保健研究域 皮膚分子病態学)
小原 隆 (エーザイ株式会社)
久保井良和 (株式会社カン研究所)
石井直人 (株式会社カン研究所)
待永明仁 (株式会社カン研究所)
小笠原秀晃 (株式会社カン研究所)
池田わたる (株式会社カン研究所)
河野 鉄 (株式会社カン研究所)
今井俊夫 (株式会社カン研究所)
尾山徳孝 (福井大学 医学部 感覚運動医学講座 皮膚科学 准教授)
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)

〈発表雑誌〉

「Arthritis & Rheumatology」(アルスライティス アンド リュウマトロジー)

(2019年6月7日(米国時間) Web 掲載。雑誌: 2019年11月号に掲載予定)

ウェブストラク URL: (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/art.41009>)

DOI 番号: 10.1002/art.41009

〈お問い合わせ先〉

(研究に関すること)

長谷川 稔 (はせがわみのる)

国立大学法人 福井大学医学部感覚運動医学講座皮膚科学
〒910-1193 吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3

(報道担当)

高田 史朗 (たかたしろう)、山岸 理恵 (やまぎしりえ)

国立大学法人 福井大学 総合戦略部門 広報課
〒910-8507 福井市文京 3 丁目 9 番 1 号

TEL: 0776-27-9733 E-mail: sskoho-k@ad.u-fukui.ac.jp