

論文の内容の要旨

論文題目 全身性強皮症の皮膚線維化の病態におけるアディポネクチンの役割

氏名 増井 友里

本研究では、全身性強皮症 (systemic sclerosis; SSc) 患者における血清アディポネクチン値と臨床症状との相関を検討し、皮膚線維芽細胞のアディポネクチンに対する反応及び受容体の発現量を比較した。更にアディポネクチン遺伝子欠損マウス (*adipo*^{-/-}マウス) を用いてブレオマイシン (BLM) 誘導強皮症モデルマウスを作成し、全身性強皮症の病態におけるアディポネクチンの役割について検討した。

SSc は皮膚及び内臓諸臓器の線維化と血管障害を特徴とする全身性の自己免疫疾患で、炎症・自己免疫・血管障害など様々な要因により線維芽細胞が恒常的に活性化され、結果的に細胞外基質の過剰な沈着が生じる。数多くの成長因子やサイトカインが SSc の病初期における細胞外基質過剰産生に関与していることが知られているが、未だ不明な点が多い。本症は皮膚硬化の範囲が肘を越えて躯幹にまで及ぶびまん皮膚硬化型全身性強皮症 (diffuse cutaneous SSc; dcSSc) と皮膚硬化が肘よりも遠位に留まる限局皮膚硬化型全身性強皮症 (limited cutaneous SSc; lcSSc) に分類され、dcSSc は lcSSc と比較して皮膚硬化の範囲が広く急速に進行し、内臓病変も高度で予後不良であり、治療に難渋することが多い。dcSSc 患者の重篤な臓器障害や皮膚硬化の進行は発症初期 (通常は 5 年以内) に進行し、その後徐々に改善する。つまり SSc は常に進行性ではなく、病初期に疾患活動性が高い (臨床症状が進む) 時期がある。この活動性の高い時期での治療の選択が重要であり、予後を規定する全身性強皮症関連間質性肺疾患 (SSc- interstitial lung disease; SSc-ILD) や肺高血圧の進行を適切な治療によって抑えることが重要である。

脂肪組織はエネルギー貯蔵庫としての役割を認識されてきたが、最近で

は多種多様なサイトカインや成長因子を分泌し様々な生理活性を有することが注目されている。アディポカインは脂肪細胞から分泌されるサイトカインやホルモンといった生理活性物質の総称で、アディポネクチン、ビスファチン、レジスチン、レプチン、**tumor necrosis factor (TNF)- α** 、**interleukin (IL)-6** など多数存在している。その中でもアディポネクチンは様々な組織での過度な炎症反応を抑制することにより、複数の肥満関連疾患の調節因子として機能することが報告され、代謝関連機能以外に様々な生理活性を有することが明らかになっている。その作用は組織によって様々で、抗炎症作用、抗動脈硬化作用、血管新生/血管新生抑制作用、抗線維化作用などが報告されている。血清アディポネクチン値は体重やインスリン抵抗性と逆相関を示し、肥満や 2 型糖尿病といったメタボリックシンドローム、心血管疾患や非アルコール性脂肪性肝疾患、皮膚疾患では乾癬で低値を示す。一方、全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患や 1 型糖尿病などの一部の自己免疫疾患では血中アディポネクチン値の上昇が報告されている。

一般に SSc の皮膚硬化は脂肪組織に近接した真皮深層から起こるため、アディポカインが皮膚の線維化にも関与している可能性を考えた。そこで我々は抗線維化作用及び抗炎症作用を持つアディポネクチンに注目し、線維性疾患であり自己免疫疾患である SSc の病態での役割を検討した。

SSc においてアディポネクチンが関与しているかどうかを調べるため、血清アディポネクチン値と臨床症状の相関を検討したところ、治療前の dcSSc では血清アディポネクチン値の低下がみられ、特に病状が進行すると言われる発症初期（罹患期間が 5 年以内）の群では、5 年より長期間の経過の群よりも有意に血清アディポネクチン値が低下し、5 年より長期間の経過の群では健常人とほぼ同様の分布を示していた。次に経口副腎皮質ステロイドによる加療を受けた発症初期の dcSSc 患者 5 症例の治療経過を追い、皮膚硬化の活動性と血清アディポネクチン値との相関を検討したところ、治療による皮膚硬化の改善に伴って血清アディポネクチン値の上昇と、皮膚硬化の再燃により血清アディポネクチン値の低下がみられた。これらの結果よりアディポネクチンは線維化の開始に大きく寄与することが考えられた。

更に SSc-ILD に対するシクロフォスファミド静注療法（intravenous cyclophosphamide; IVCY）の治療効果と血清アディポネクチン値の相関について検討し、活動期（症状が進行する時期）の SSc-ILD の患者で IVCY によって、初回治療後に血清アディポネクチン値が著明に上昇した症例は、乾性咳嗽や呼吸苦の改善も顕著で、ILD の活動性が高く、フォローアップ期間中に悪化するなど IVCY の治療効果は乏しかった患者では、IVCY 全体を通じて血清アディポネクチン値は変化がなかった。血清 KL-6 と SP-D が血清アディポネクチン値と有

意に逆相関することを考え合わせると、IVCY 中の血清アディポネクチン値の動きは SSc-ILD の治療に対する感受性を反映していることが考えられた。IVCY は SSc-ILD の第一選択薬ではあるが、一部の症例は治療抵抗性であり、血清アディポネクチン値の変動をモニターすることが SSc-ILD に対する IVCY の有効性の評価や予測に有用である可能性が示された。また ILD 合併 dcSSc 患者では、皮膚の場合と同様に、血清アディポネクチン値は活動性（症状の増悪）と逆相関するが、重症度（全身としての現在の臨床症状の強さ）とは相関しない可能性が考えられた。

血清の検討により、SSc の症状とアディポネクチンに関連があることが示されたので、次に皮膚の線維化におけるアディポネクチンの関与を正常及び強皮症皮膚線維芽細胞を用いて *in vitro* で検討した。正常皮膚線維芽細胞の transforming growth factor- β (TGF- β) 刺激下での I 型コラーゲン (*COL1A2*) 遺伝子の mRNA 発現量は、アディポネクチン刺激により有意に低下し、matrix metalloproteinase-1 (*MMP-1*) 遺伝子の mRNA の発現は亢進傾向であったが、強皮症皮膚線維芽細胞では *COL1A2* 遺伝子及び *MMP-1* 遺伝子の発現には変化なかった。強皮症皮膚線維芽細胞で抗線維化作用が示されなかった原因を検討するために、アディポネクチン受容体の発現を調べたところ、強皮症皮膚線維芽細胞では *ADIPOR1* 及び *ADIPOR2* 遺伝子の mRNA の発現量が低下していた。

これまでの結果により、アディポネクチンと SSc 及び皮膚線維化に関連があることが示されたので、次に血清アディポネクチン値の低下が SSc の病態に関与するのか、SSc の線維化を含む諸症状の結果として血清アディポネクチン値が低下しているのかを *in vivo* で評価するために、BLM 誘発強皮症モデルマウスを作成し、検討を行った。BLM 誘発強皮症モデルマウスの皮膚において、脂肪組織は概ね消失し、野生型マウスに BLM を局注した群では PBS 局注群と比較して、*Adipoq* 遺伝子の mRNA 発現量は低下し、*adipo*^{-/-} マウスは野生型マウスと比較して BLM により誘導される皮膚硬化が有意に亢進し、筋線維芽細胞の数も増加していた。

以上より、アディポネクチンの低下により皮膚硬化が促進することが示された。血清アディポネクチン値は dcSSc の皮膚硬化の活動性を反映し、SSc-ILD に関しては IVCY の有効性のマーカーとして有用である可能性もあり、アディポネクチンが SSc の病態において重要な役割を果たしていることが考えられる。また、SSc 患者では、血清アディポネクチン値が低いのに加え、アディポネクチン受容体である *ADIPOR1* と *ADIPOR2* 遺伝子の発現量が低下していることで、抗線維化作用がより起きにくい状態になっていることが考えられた。また BLM 誘発強皮症モデルマウスの実験では、皮膚硬化が *adipo*^{-/-} マウスの方が野生型マウスと比較して有意に亢進していた。SSc では肥満歴や糖尿病と臨床症状の関連

性を示すような報告はなく、SScの皮膚硬化は脂肪組織に近接した真皮深層から起こることを考慮すると、この皮膚硬化の差は内臓由来よりも皮下組織の白色脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの差にあるのではないかと考えた。今後も更なるデータの蓄積と検討によって、SScの病態におけるアディポネクチンの役割の解明や病勢及び治療マーカーとしてのアディポネクチンの臨床への応用が期待される。