

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591444

研究課題名(和文)トシリズマブ投与が全身性強皮症に及ぼす影響を与えるか

研究課題名(英文)The molecular level influence of tocilizumab administration in patients with systemic sclerosis

研究代表者

嶋 良仁 (Shima, Yoshihito)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90362706

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：全身性強皮症の病態形成にinterleukin-6(IL-6)の関与が疑われることから、抗IL-6受容体抗体(トシリズマブ[TCZ])の影響検討試験が遂行中である。この患者血清を用いて23種類のサイトカイン測定を行い、TCZ投与による影響を検討した。TCZ投与への臨床的反応の有無とIL-6前値との間には相関がみられなかった。TCZ投与に臨床的反応があった症例ではTCZ投与開始後に一過性IL-6、IL-8、IL-1beta、MIP-1alpha上昇があり、スキンスコアの変動に従ってIL-10、IL-12、IL-9が低下した。これらの変動は本疾患の病態改善に関与する因子の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-6 (IL-6) is thought to play a part of role in the pathogenesis of systemic sclerosis. To know the influence of anti-interleukin 6 receptor antibody tocilizumab (TCZ) which can inhibit the function of IL-6 to the patients with systemic sclerosis, we conduct a clinical trial using TCZ. We analyzed 23 kinds of cytokines, chemokines in the sera of the entry patients to know the effect of TCZ. The patients who showed decrease of skin score presented transiently augmentations of IL-6, IL-8, IL-1beta, and MIP-1alpha. They also presented decrease of IL-10, IL-12, and IL-9 parallel to decrease of their skin score. We have not found out the correlation between the IL-6 level before initiating TCZ and the changes of skin score. The decreasing cytokines may be noteworthy to make a new treatment strategy.

研究分野：リウマチ膠原病学

キーワード：全身性強皮症 サイトカイン interleukin-6 抗IL-6受容体抗体 tocilizumab

1. 研究開始当初の背景

(1) 全身性強皮症の現状

全身性強皮症(SSc)は皮膚、皮下組織、肺、消化管、腎など内臓諸臓器が線維硬化する原因不明の自己免疫疾患であるが、いまだ有効な治療法が確立されていない。患者は皮膚・皮下組織の硬化によって関節可動域を喪失し徐々に動けなくなるか、あるいは血行障害の進行から末梢に皮膚潰瘍が多発し感染症を引き起こすなど、現在においても予後不良な疾患である。

(2) Interleukin-6 の病態形成への関与

SSc の病態形成に炎症性サイトカインである interleukin-6(IL-6) が関与すると思われる様々な報告がある。Needleman らは SSc 患者血清では IL-6 濃度が健康者に比べて高いことを報告し[1]、Feghali らは SSc 患者皮膚を培養すると IL-6 の高い産生があることを報告した[2]。佐藤らは SSc 患者血清中の 32 種類のサイトカイン濃度を測定し、皮膚の重症度と相関があったのは IL-6 であったと報告している[3]。さらに、川口らは SSc 患者から採取された皮膚線維芽細胞を抗 IL-6 抗体と培養したところ培養細胞から皮膚硬化に関与する型コラーゲンの産生が抑制されたと報告した[4]ことから、IL-6 を抑制することで、皮膚硬化の抑制が可能かと考えられた。我々は、強皮症モデルマウスに対して抗マウス IL-6 受容体抗体を投与することで、一度硬化した皮膚を柔らかくすることに成功した[5]。現在、抗ヒト IL-6 受容体抗体は tocilizumab(TCZ) が関節リウマチの治療薬として使用されており、本剤を SSc の治療薬として用いられる可能性が出てきた。既存の治療方法で軽快が得られない SSc 症例に TCZ を投与した結果、皮膚硬化や関節拘縮の軽快した症例を経験した[6]。そこで、TCZ の SSc 患者への効果を検証するために多施設試験を施行した(UMIN000005550)。

2. 研究の目的

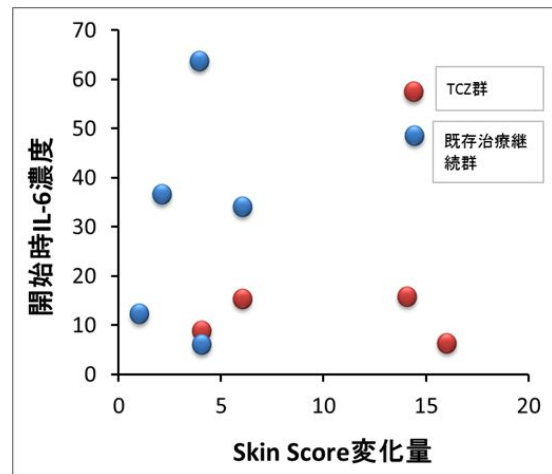
SSc 患者に IL-6 の作用を阻害する TCZ を投与した場合、炎症マーカーや病態形成に関与が示唆される他のサイトカインやケモカインはどうなるか、これまで検討されたことが無い。TCZ の SSc 患者への影響を検証する目的で血清中のサイトカイン、ケモカイン濃度、および皮膚組織での分布を観察することにした。

3. 研究の方法

TCZ を投与期間中の SSc 患者より定期的に血清採取し、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法もしくは Bio-Plex を用いて 23 種類のサイトカイン、ケモカインの測定を行う。また TCZ 投与前後において皮膚生検を実施し、免疫染色法により組織中サイトカインの局在の変化を観察する。

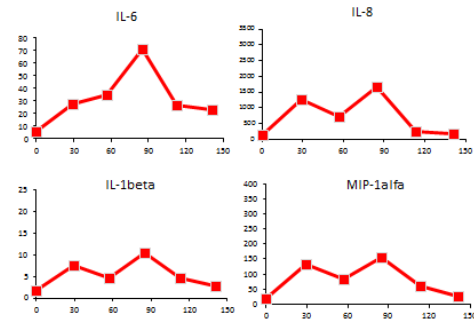
4. 研究成果

全身性強皮症の皮膚病変への TCZ の影響についてはスキンスコアの低下が現れた症例と認めがたい症例とが存在した。血清中のサイトカインのプロファイルによってこの結果が事前に予測できれば好都合であることから、23 種の血清中サイトカインとスキンスコア変動との相関を求めた。TCZ は IL-6 の作用を阻害する抗体であることから、血清中 IL-6 が高い症例は反応がよいかと予想されたが、反応良好例と不良例とも間に IL-6 濃度の違いは見いだせなかった。下図に示すように、4 名の TCZ 加療を受けた患者は TCZ 投与開始前の IL-6 レベルがほぼ同様であったが、その後のスキンスコアの変動は 6 ヶ月間 13 点以上の低下がみられた例と、既存治療のみを継続した症例と同様の変化しか現れなかった症例とに分かれた。

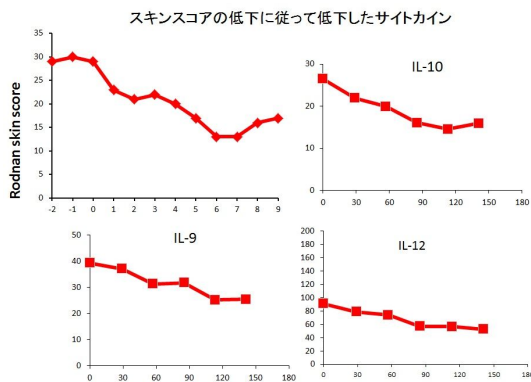


反応が良好であった症例において、経時的にサイトカインプロファイルを追跡すると、TCZ 投与開始後に IL-6、IL-8、IL-1beta、MIP-1alfa は一過性上昇が観察された。

TCZ投与後一過性上昇がみえるもの

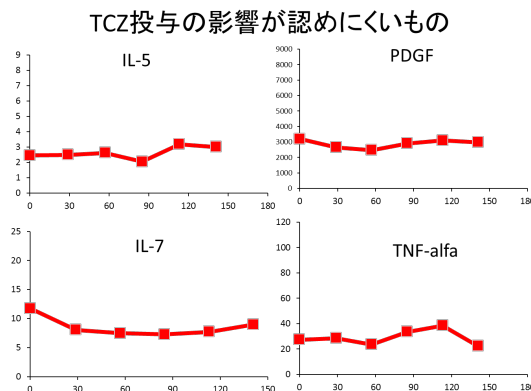


一方、TCZ 投与開始後にスキンスコアの変動に従って低下したものに IL-10、IL-12、IL-9 があった。



過去に、佐藤らの報告ではスキンスコアの重症度と血清中のサイトカインレベルとの相関について IL-6 以外に IL-10 も報告されており [3]、今回スキンスコアの変動に従って IL-10 の低下がみられたことは、本疾患の皮膚病変の病勢を反映している可能性があると思われる。

IL-5、IL-7、PDGF、TNF-alfa については TCZ 投与前後において特に変化が観察されなかった。



以上の結果はサンプル数が限られているため、尚症例数を蓄積する必要がある。しかしながら、関節リウマチ患者に TCZ を投与した際に観察されている一過性の IL-6 上昇が SSc 患者でも発生しうる可能性が示唆される結果であった。また、皮膚硬度の変化とともに変動するサイトカインがあり、これらは今後の新たな治療戦略を考えるうえで有用な材料になると考えられる。

組織検討については TCZ 投与後の再生検を承認いただけた症例が僅少であった。次に規模を拡大した臨床試験が予定されていることから、ここでの検討を行わなかった。

欧米においても SSc 患者に TCZ 加療を行う試みがなされたが (NCT01532869)、我々の多施設試験と同様に、TCZ 加療群ではスキンスコアがより優位に低下する傾向がみられているが、反応がみられる症例と反応が乏しい症例の存在から群間として有意差を得られない結果となっている。ここから、SSc 患

者のなかで抗 IL-6 治療に適した症例群の層別化の必要性が考えられる。今回の検討では開始前の IL-6 レベルでは TCZ 治療の反応性を予測しえない結果になったが、尚規模を拡大した検討が必要である。

#### <引用文献>

- 1) Needleman BW, Wigley FM, Stair RW. Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, and interferon-gamma levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1992;35:67-72.
- 2) Feghali CA, Bost KL, Boulware DW, Levy LS. Mechanisms of pathogenesis in scleroderma. I. Overproduction of interleukin 6 by fibroblasts cultured from affected skin sites of patients with scleroderma. *J Rheumatol.* 1992;19:1207-11.
- 3) Sato S, Hasegawa M, Takehara K. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin thickness score in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci.* 2001 ;27:140-6.
- 4) Kawaguchi Y, Hara M, Wright TM. Endogenous IL-1alpha from systemic sclerosis fibroblasts induces IL-6 and PDGF-A. *J Clin Invest.* 1999;103:1253-60.
- 5) Kitaba S1, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, et al. Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. *Am J Pathol.* 2012;180:165-76.
- 6) Shima Y, Kuwahara Y, Murota H, Kitaba S, et al. The skin of patients with systemic sclerosis softened during the treatment with anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49:2408-12.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計2件)

- 1) 嶋 良仁「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」第 18 回強皮症研究会議、2015 年 1 月 17 日東京
- 2) 嶋 良仁、桑名正隆、川口鎮司「ヒト型化抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) 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」第 59 回日本リウマチ学会学術集会、2015 年 4 月 25 日名古屋

[図書](計1件)

“Systemic Sclerosis: Basic and Translational” Takehara K, Fujimoto M, Kuwana M, Shima Y et al. Springer 2015

6 . 研究組織

(1)研究代表者

嶋 良仁(SHIMA, Yoshihito)  
大阪大学大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：90362706

(2)研究分担者

田中敏郎(TANAKA, Toshio)  
大阪大学大学院医学系研究科抗体医薬臨  
床応用学・寄附講座教授  
研究者番号：40273651