

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790696  
 研究課題名(和文) 強皮症モデルマウスにおける imatinib 及び PDGF 受容体選択的抑制の治療効果  
 研究課題名(英文) Therapeutic effects of imatinib and selective PDGF receptor inhibitor in a mouse model of systemic sclerosis  
 研究代表者  
 伊與田 雅之 (IYODA MASAYUKI)  
 昭和大学医学部内科学講座腎臓内科学部門・助教  
 研究者番号：20384365

研究成果の概要(和文)：強皮症モデルマウスにおける imatinib の治療効果について検討した。13 週の Tight skin mice に imatinib 治療を 8 週間継続したところ、有意に皮膚線維化を抑制した ( $186.40 \pm 20.35$  vs  $101.96 \pm 16.64 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.01$ )。mRNA レベルで線維化マーカーを検討した結果、有意に collagen type I, fibronectin, TGF- $\beta$  mRNA を抑制した (collagen type I: -38%; fibronectin: -46%; TGF- $\beta$ : -26%)。さらに imatinib は血清 Scl-70 レベルを有意に抑制した ( $0.83 \pm 0.23$  vs  $0.38 \pm 0.05$ ,  $p < 0.05$ )。imatinib は Tsk mice において皮膚線維化発症後に投与を開始しても治療効果を認めたことから、強皮症における治療効果が期待出来る。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the therapeutic effects of imatinib on a mouse model of systemic sclerosis. Compared to controls, imatinib-treated tight skin (Tsk) mice had reduced dermal thickening ( $186.40 \pm 20.35$  vs  $101.96 \pm 16.64 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.01$ ). Furthermore, imatinib-treated mice had significantly reduced skin fibronectin, TGF- $\beta$  and collagen type I mRNA expressions (collagen type I: -38%; fibronectin: -46%; TGF- $\beta$ : -26%). In addition, imatinib treatment also significantly reduced the serum anti-Scl70 antibody levels compared to vehicle treatment ( $0.83 \pm 0.23$  vs  $0.38 \pm 0.05$ ,  $p < 0.05$ ). Conclusion: Imatinib treatment showed therapeutic effects in Tsk mice. The results of this study suggest that imatinib may be a novel approach for treating systemic sclerosis.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	700000	210000	910000
21 年度	500000	150000	650000
年度			
年度			
年度			
総計	1200000	360000	1460000

研究分野：膠原病・アレルギー内科学  
 科研費の分科・細目：膠原病・アレルギー内科学  
 キーワード：強皮症 imatinib B細胞

### 1. 研究開始当初の背景：

PDGF が大きくその病態に関与している疾患の一つに強皮症がある。最近、PDGFR に対する自己抗体が強皮症患者血清に特異的に認められ、これが PDGFR に結合し、Ha-Ras、ERK1/2 を介して線維芽細胞の活性酸素産生を亢進させ、myofibroblast への変化やコラーゲン産生亢進により線維化病態に関与するという興味深い報告がなされた (Baroni et al. *N Engl J Med* 354: 2667-2676, 2006)。そして imatinib が PDGF や TGF- $\beta$  刺激による皮膚線維芽細胞の collagen、fibronectin 産生を阻害し、ブレオマイシン皮下注により誘発した皮膚の線維化も imatinib の腹腔内投与で阻止することが報告された (Distler et al. *Arthritis Rheum* 56: 311-322, 2007)。また、近年の研究において強皮症は、B 細胞が単に抗体産生という機能のみならず、抗原提示や cytokine 産生という意味においてもその病態形成に大きく関わっていることが解明された (Fujimoto et al. *Curr Opin Rheumatol* 17: 746-751, 2005)。Imatinib が PDGFR 抑制のみならず、B 細胞の分化・成長を抑制するということは既に我々が報告しており、強皮症への治療効果を大いに期待出来る。Imatinib は副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬を中心とした治療に抵抗性である病態を、PDGFR 抑制による皮膚線維芽細胞の活性化や増殖に対する強力な抑制作用と B 細胞抑制による病態に関わる抗原提示や cytokine 産生抑制といった多様な機序で克服しうる可能性を秘めた薬剤である。

### 2. 研究の目的：

この実験の目的は、慢性骨髄性白血病や消化管間葉腫瘍の治療薬として広く臨床活用されており比較的副作用も少ない imatinib を、副腎皮質ステロイドや免疫抑制剤の有効性が低い強皮症に将来臨床応用するための礎を築くことである。強皮症における皮膚線維化に PDGF が関与していることはもはや疑いの余地はなく、ブレオマイシン皮下注により誘発した皮膚の線維化も imatinib で阻止できることから、強皮症における imatinib の治療効果に期待が持たれる。近年の研究において強皮症は、B 細胞が単に抗体産生という機能のみならず、抗原提示や cytokine 産生という意味においてもその病態形成に大きく関わっていることが解明された。このことは Tsk において CD19 抑制 (Saito et al. *J Clin Invest* 109: 1453-1462, 2002) や CD20 抑制 (Hasegawa M et al. *Am J Pathol* 169: 954-966, 2006) による治療効果がみられた

ことから、B 細胞が強皮症の病態に大きく関与していることが伺える。我々は imatinib が、クリオグロブリン産生を劇的に抑制するという予期しない結果から、B 細胞の詳細な検討を行い、imatinib の B 細胞分化・成長抑制作用を発見した。この結果から imatinib は PDGFR 抑制作用のみならず B 細胞抑制作用との相乗効果で、より強力に強皮症における皮膚線維化を抑制してくる可能性が考えられた。この推測は独創的であり、ブレオマイシンにて誘発した皮膚線維化よりも、さらに human の強皮症に類似した病態を示す Tsk を使用し、PDGF、B 細胞双方を検討することにより強皮症における imatinib 治療効果の新たな知見が生まれると予想される。

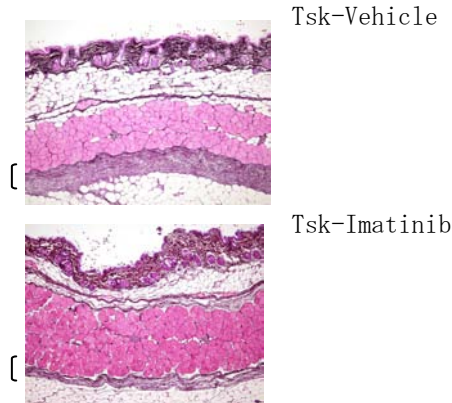
この実験でもう一つ注目すべきは、皮膚線維化発症後に imatinib の治療を開始して、治療効果があるかということである。皮膚線維化発症前に治療を開始して治療効果を得た論文はあるが、皮膚線維化発症後では報告がない。Hasegawa らは B 細胞の他に T 細胞や肥満細胞も同時に抑制すれば治療効果が期待出来るかもしれないと推測しているが (Hasegawa M et al. *Am J Pathol* 169: 954-966, 2006)、imatinib は B 細胞抑制の他に T 細胞抑制効果も報告されており興味深い (Seggewiss R et al. *Blood* 105: 2473-2479, 2005)。我々はクリオグロブリン腎症発症マウスの慢性期に imatinib の治療を開始し、腎炎のみならず皮膚潰瘍まで劇的な治療効果を得た。またブレオマイシン誘発肺障害にて imatinib は炎症後期に線維化主体となった時期に投与を開始しても治療効果を認めた (Chaudhary et al. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 769-776, 2006)。以上の evidence より imatinib は Tsk において予防効果のみならず慢性期の治療効果を発揮する可能性を秘めている。

### 3. 研究の方法

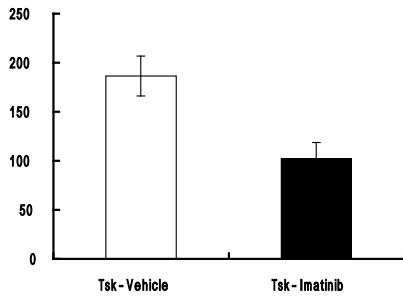
全身性強皮症を発症する Tight skin mice (Tsk) を治療群と非治療群に無作為に振り分ける。治療群は imatinib (50mg/kg) を 8 週間、腹腔内投与する。非治療群は同量の vehicle (sterile water) を 8 週間、腹腔内投与する。治療後に屠殺し、皮膚の組織学的評価を行い、さらには皮膚における線維化に重要な因子である collagen type I、TGF- $\beta$ 、Fibronectin を RNA レベルで評価する。血清では Sc170 を測定する。各群比較し、imatinib の Tsk にたいする治療効果、そのメカニズムを解明する。

4. 研究成果

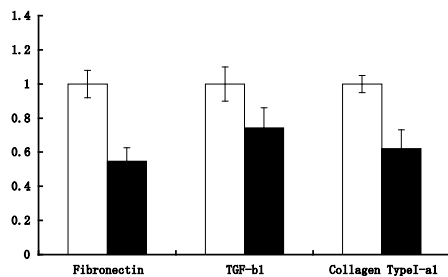
①生後 13 週の Tight skin mice に imatinib 治療を 8 週間継続したところ、有意に皮膚線維化を抑制した ( $186.40 \pm 20.35$  vs  $101.96 \pm 16.64 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.01$ )。



Thickness of fibrous layer ( $\mu\text{m}$ )



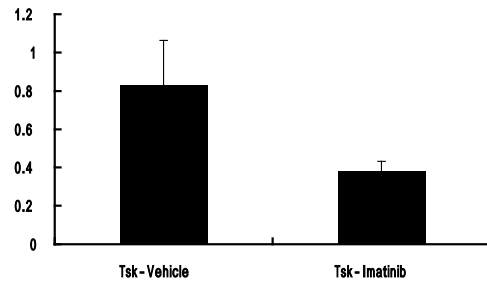
②mRNA レベルで線維化マーカーを検討した結果、有意に collagen type I, fibronectin, TGF- $\beta$  mRNA を抑制した (collagen type I: -38%; fibronectin: -46%; TGF- $\beta$ : -26%)。



③さらに imatinib は血清 Scl-70 レベルを有意に抑制した ( $0.83 \pm 0.23$  vs  $0.38 \pm 0.05$ ,

$p < 0.05$ )。

Serum anti-Scl70 antibody levels



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 2 件)

① Iyoda M, et al., Imatinib suppresses cryoglobulinemia and secondary membranoproliferative glomerulonephritis, J Am Soc Nephrol 2009, 20, 68-77.

② Iyoda M, et al., Preventive and therapeutic effects of imatinib in Wistar-Kyoto rats with anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. Kidney Int 2010, 75, 1060-1070

[学会発表] (計 7 件)

① 伊與田雅之、他、ImatinibによるWKYラット抗GBM抗体腎炎の抑制効果、第 52 回日本腎臓学会学術総会、横浜

② Iyoda M, et al., Preventive and therapeutic effects of imatinib in Wistar-Kyoto rats with anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. ERA-EDTA Congress 2009, Milan

③ Iyoda M, et al., Nilotinib attenuates the progression of chronic renal failure in 5/6 nephrectomized rats Annual meeting, American Society of Nephrology 2009, San Diego

④ 伊與田雅之、他、ImatinibによるWistar-Kyoto(WKY)ラット抗GBM抗体腎炎抑制効果、第 10 回腎炎・ネフローゼ研究会、東京

⑤ 伊與田雅之、他、CKDの発症・進展におよぼすチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果、CKD Award 2009、東京

⑥ 伊與田雅之、他、5/6 腎摘ラットにおけるニロチニブの腎不全進行抑制効果、第 10 回腎不全病態治療研究会、東京

⑦ Iyoda M, et al., Preventive and

therapeutic effects of imatinib in anti-GBM glomerulonephritis induced in WKY rats, Annual meeting, American Society of Nephrology 2008, Philadelphia

〔図書〕（計1件）

伊與田雅之、他、中外医学社、Annual Review 2010  
腎炎の発症・進展におよぼすチロシンキナーゼ阻  
害薬の効果、2010、99-106

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊與田 雅之 (IYODA MASAYUKI)  
昭和大学医学部内科学講座腎臓内科学部門  
助教  
研究者番号：20384365

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：