

説 説

汎発性強皮症の病因論

—仮説の提唱とその後の展開—

竹原 和彦

Jpn. J. Clin. Immun., 20 (1): 1~7, 1997.

I. はじめに

汎発性強皮症は皮膚硬化を主徴とし、皮膚以外にも肺、食道、腎、心などの内臓諸臓器にも線維化をきたす系統的疾患で、いわゆる膠原病の1つとして分類される。本症の病因はいまだ不明であるが、本症の病因解明および根治的治療法の確立は急務ではあり、現在も世界中の研究者により精力的な研究が積み重ねられている。

本症の病因に対するアプローチは極めて多方面より試みられているが、大別すると皮膚線維芽細胞を中心とした細胞生物学的な側面よりのものと、抗核抗体を中心とした免疫学的な側面からのものが主流といえる^{1,2)}。

本症の病因論としてはこれまでに無数といえる仮説が提唱されてきたが、その中には一世を風靡したもののその後反証が提出されたり確固たる展開をみずに消え去ったものも少なくない。本論文では、これまでに提唱された主たる仮説を紹介するとともに、その後の展開についても概説し、今日的な視点でそれらの仮説を評価したい。

II. コラーゲン代謝

本症の病因の仮説として、強皮症病変部皮膚に存在する皮膚線維芽細胞によるコラーゲンの産生亢進が存在するとする考えが広く受け入れられている。このような仮説を最初に提唱したのは米国のリウマチ病医である LeRoy で、1972年のことである³⁾。彼は汎発性強皮症病変部由来の皮膚線維芽細胞を *in vitro* で培養

し、正常皮膚由来の線維芽細胞に比してそのコラーゲン合成が亢進していることを報告した。以来、本症の病因を探るうえでの有力な手段として、病変部由来皮膚線維芽細胞における異常を *in vitro* の培養系で研究する方法が広く用いられるようになってきた。

その後、Perlish らにより正常人と本症病変部皮膚由来の線維芽細胞との間にコラーゲン合成の差は認められなかったとする反論が発表されたが⁴⁾、後に Perlish らの実験系ではアスコルビン酸（ビタミンC）が添加されていない点が不備であるとする意見が出され、最近までの多くの研究が LeRoy によって提唱された“強皮症線維芽細胞のコラーゲン合成亢進”を支持している。

また、病変部由来線維芽細胞におけるコラーゲン合成の異常については

- 1) 蛋白量としてのコラーゲン合成増加⁵⁾
- 2) コラーゲン mRNA レベルの上昇⁶⁾
- 3) コラーゲン遺伝子調節領域の活性化⁷⁾

と、実験技術の進歩とともに、より遺伝子レベルでの異常の解明に至った。

また、これらの *in vitro* において得られた研究の成果は、近年の免疫組織化学や分子生物学的手法の応用により、*in vivo* への研究に発展している。すなわち、培養細胞を用いて間接的に *in vivo* で起こった現象を推測する *in vitro* の実験系より、実際の病変部で発生している事実を直接的に観察する方向へ研究の主流が移りつつある。具体的には、*in situ* hybridization 法によって病変部皮膚におけるコラーゲン mRNA 発現の増強⁸⁾や、免疫組織化学的手法によって患者病変部および非病変部の両者におけるプロコラーゲンの沈着⁹⁾が明らかにされ、*in vivo* の研究においても初期

病変におけるコラーゲン代謝の異常の重要性が示唆されている。

今後も強皮症の病因解明の鍵を握るのはコラーゲン代謝異常の解明であることは疑いもないが、以下に挙げた問題点もあり、今後の研究の発展が望まれるところである。

(1) 必ずしも病変部より得られた皮膚線維芽細胞の strain 全部でコラーゲン合成の上昇が証明されるわけではない。

(2) コラーゲン合成の上昇といっても、蛋白レベルでも mRNA レベルでも、せいぜい 2 倍程度の上昇に過ぎない。

(3) 継代を経るに従って、正常線維芽細胞との差が小さくなり、培養初期の線維芽細胞でしか実験が行えない。

(4) 線維芽細胞が活性化されているのか、もともとコラーゲン産生の高い subclone が選択されているのかが明らかにされていない。

(5) 免疫学的異常とコラーゲン代謝の異常の関連がうまく説明されていない。

III. 血管内皮細胞障害因子

1979 年 Kahleh らは、本症患者血清中に血管内皮細胞に対して特異的な細胞障害因子が存在し、これは本症およびレイノー病患者に特異的みられると報告した¹⁰⁾。また彼らはこの因子は trypsin inhibitor で抑制されることより、酵素活性に基づく作用であろうとした¹¹⁾。

彼らの研究は、古くより指摘されてきた本症における血管障害を一元的かつ明確に説明しうるものとして一躍脚光を浴びた。しかしながらその後、本症患者血清中における血管内皮細胞障害因子の存在は諸家により確認されたものの多くの点で Kahleh らの報告との相違をみている。すなわち、その頻度については報告により異なり、またその因子は強皮症と他の膠原病でほぼ同様の頻度でみられ、また血管内皮細胞のみならず皮膚線維芽細胞に対しても細胞障害性を有していると報告された¹²⁾。

今日まで Kahleh らの報告を積極的に指示する報告も乏しく、また単一物質としての同定には至っていないことよりこの方面の研究の進歩はみられていない。筆者自身は、患者血清中に存在した治療薬による細胞障害を誤認した可能性も否定できないと考えている。なお、最近では、抗血管内皮細胞抗体による血管障害

も本症の病態に関与しているとする報告が相次ぐようになったが、これは汎発性強皮症に特異的なものではなく膠原病全般に共通して認められる。

IV. 線維芽細胞に対する特異 mitogen

1983 年 LeRoy ら¹³⁾は、次いで 1984 年 Potter ら¹⁴⁾は相次いで、強皮症患者血清中には皮膚線維芽細胞に対する特異的な mitogen が存在するとのデータを発表し、この因子が本症病変部における線維芽細胞の増殖を促進しているとの仮説を提唱した。

しかし後に LeRoy の研究室に研究員として加わった筆者自身の追試によりこのような因子の存在は否定された^{15,16)}。ちなみに、血清中に存在する線維芽細胞に対する増殖刺激活性の大部分は *in vitro* で血小板が凝集される際に放出される Platelet-derived Growth Factor (PDGF) であり、末梢血中に存在する mitogen を検出しようとするためには、血小板凝集をほぼ 100% 抑制する EDTA 添加採血による血漿が必要であったはずである。また後に我々は、本症患者血漿中の PDGF の上昇を確認したがこれは血小板の局所的な凝集を意味するものであり、血漿中の PDGF の濃度は mitogen として作用する生理活性以下のものであった。

V. TGF- β 病因論

1990 年代になり TGF- β の汎発性強皮症の病因への関与を示唆する報告が相次ぎ、TGF- β はにわかになりに注目を集めている。その先駆けとなったのは、1989 年の LeRoy らによる “A strategy for determining the pathogenesis of systemic sclerosis—Is transforming growth factor β the answer?” なる論文で、この論文中で TGF- β が強皮症の病因に関与しているとする仮説が提唱された¹⁷⁾。TGF- β はそれまでの報告において、皮膚線維芽細胞によるコラーゲンやフィブロネクチンなどの合成促進^{18,19)}、新生マウスの皮下に注入することによる *in vivo* における線維化誘導²⁰⁾、血管内皮細胞の *in vitro* における増殖抑制²¹⁾などの作用を有することが知られていた。TGF- β の有する以上の性質は、汎発性強皮症の病態を単独の因子で説明するには都合のよい物質であり、TGF- β の本症への関与が想定された (図 1)。

すなわち彼らとその論文の表題で “a strategy” 「戦略」としている趣旨は、すでに数多く同定されている細胞成長因子、サイトカイン等の物質の中から本

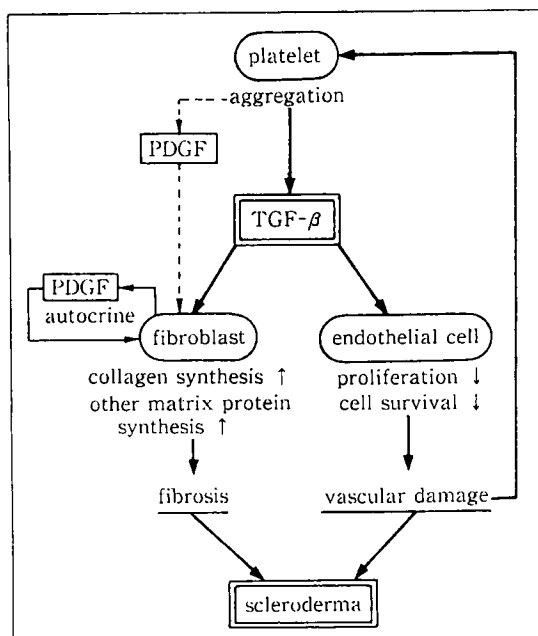


図1 強皮症における TGF- β 病因説 (文献1) より

症の病態に適合する作用を有する因子を選び出し、その因子が発症に関与しているとの前提で、今後の研究を展開させていこうとする方法論の提唱であり、具体的にもっとも有力な因子として TGF- β に注目したということである。TGF- β が創傷治癒において重要な働きを有しており、線維化をきたす疾患の一部においては、その病態に大きく関与しているという点については衆目の一致するところである。汎発性強皮症については、LeRoy らによる仮説提唱以後も病変部における TGF- β の局在、TGF- β mRNA の発現、血中の活性型 TGF- β 量、病変部由来線維芽細胞による TGF- β の産生量などが研究されているが、その結果は本症の病因における TGF- β の関与を肯定するものと否定するものがほぼ同数であり、今後の展開が待たれるところである。

TGF- β が培養血管内皮細胞の増殖を抑制することは諸家により報告されてきたが、これらの研究は、すべて増殖期における培養血管内皮細胞を用いたものである。しかしながら正常の血管内腔は一定数の血管内皮細胞によって被覆されていることより、われわれは増殖を停止した定常期の培養血管内皮細胞の生存曲線に対する患者血清の影響を調べた²²⁾。その結果、正常人血清に比して患者血清は血管内皮細胞の生存を有意

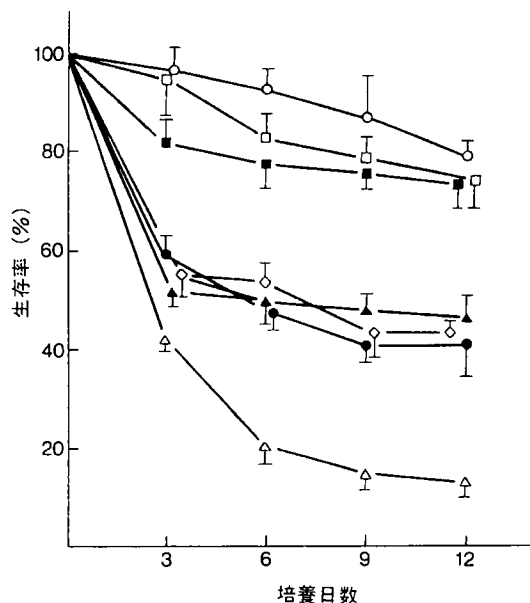
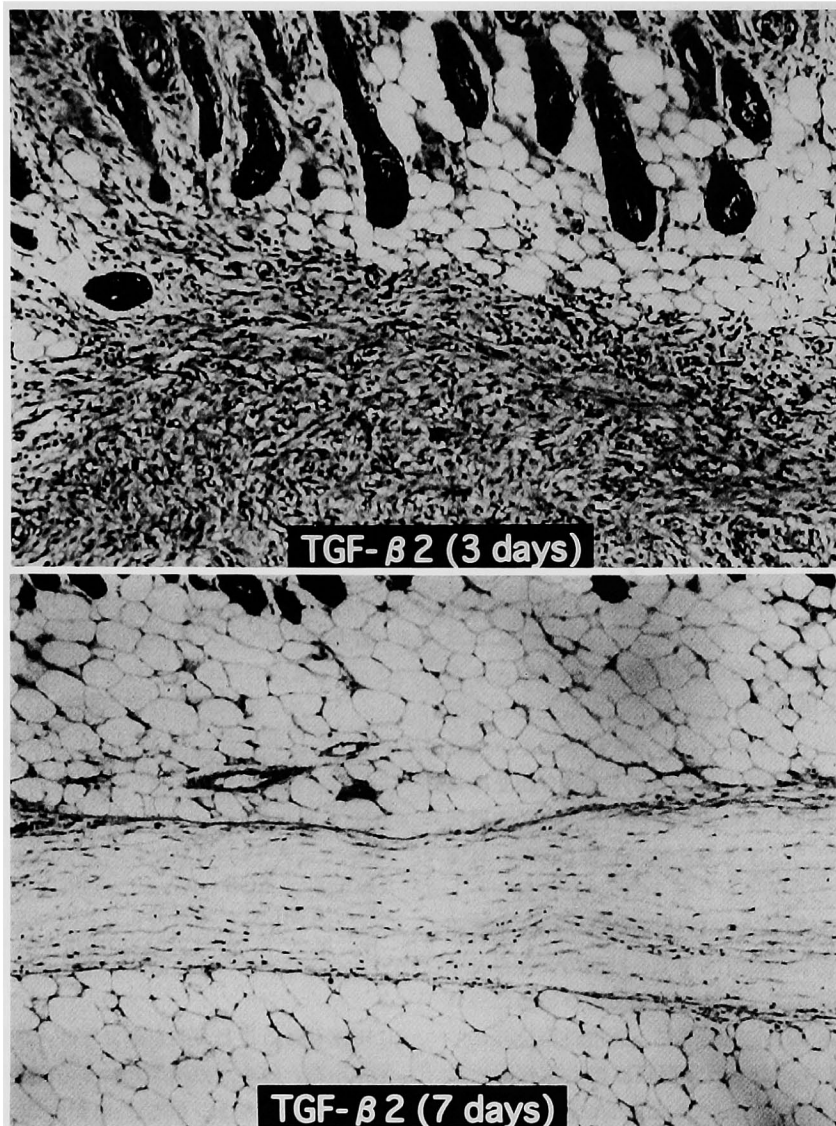


図2 ラット心由来血管内皮細胞の生存期間に対する各種細胞増殖因子の作用

ラット心由来血管内皮細胞を24穴プレートに 1×10^4 個播種し、4~6日後に定常期まで増殖した後に細胞増殖因子をまったく含まない無血清 MEM (●)、10 ng/ml EGF (□)、10 ng/ml TGF- α (■)、10 ng/ml TGF- β (△)、10 μ g/ml インスリン (◇)、2.5% ウシ胎仔血清 (○)、10 ng/ml EGF+10 ng/ml TGF- β (▲) を含む無血清 MEM に培養液を変えた (第0日)。その後、第3、6、9、12日に細胞数を得た。

に短縮させることが明らかにされ、細胞障害ではなく生存短縮というメカニズムによる血管障害の可能性が示唆された。なお、同様の血管内皮細胞の生存短縮は、TGF- β によっても誘導されることが知られており²³⁾ (図2)、患者血清中では TGF- β の活性化が起こっている可能性が示唆された。

また我々は、Roberts によって報告された²⁰⁾新生マウス皮下に TGF- β を投与して誘導される fibrosis の実験モデルについて追試を行ったが、得られた fibrosis は一過性のものであり (図3)、連続投与によっても消退をみた。従って、線維化病変を誘導する因子としては、TGF- β 単独では十分でなく、TGF- β と同時に作用して不可逆的な fibrosis を形成し得るサイトカインについて現在我々の研究室で研究中である。



上：図3 a

下：図3 b

図3 a：新生マウス皮下に TGF- β 2 連日 800 ng 注入，3 日後の組織。著明な肉芽形成と線維化を認めた。
b：新生マウス皮下に TGF- β 2 連日 800 ng 注入，7 日後の組織。連続注入にもかかわらず肉芽と線維化はほぼ消退した。

VI. 患者尿中の発病因子

1975 年，石川らは本症患者尿中に本症類似の線維化病変を誘導するヘパラン硫酸分画を発見し，「発病因子」として報告した²⁴⁾。本研究は世界中より注目を集め，その後も同グループにより同因子の解析が進め

られてきたが，いまだ物質の構造決定には至っておらず，また追試不能との論文も発表されている²⁵⁾。

現在では，この因子は本症の病態を形成する一つの因子に過ぎず，すべての病態あるいはすべての症例での変化をこの因子のみで説明しうるものではないと考えられているようで，この因子の研究も頓挫している

感がある。

VII. 抗核抗体発現・molecular mimicry か？

汎発性強皮症患者の約90%は血中の抗核抗体が陽性であり、各種の特異抗核抗体の中でも比較的重症型にみられる抗トポイソメラーゼI抗体および軽症型にみられる抗セントロメア抗体の2つが出現頻度も高く、特によく知られている。また近年の免疫プロット法などの新しい実験技術の導入により、出現頻度は低いながらも本症に特異性の高い抗体として抗RNAポリメラーゼ抗体、抗U3-RNP抗体、抗Th-RNP抗体、抗U4/U6 snRNP抗体などが発見されている。

現在のところ、これらの抗体そのものが自己抗原と反応することによって、本症の病態が形成されるという考え方は否定的であるが、いかなる機序によって、これらの自己抗体が出現するかについては、全く明らかにされていない。しかしながら、本症における抗核抗体の出現は、種々の臨床症状の出現に先行することが知られており、本症における抗核抗体産生の機序の成因とかなり深く関わっていることは間違いのないであろう。

1989年にMaulらは抗トポイソメラーゼI抗体の抗原決定部位を検索し、同部位とレトロウイルスP30^{gag}蛋白との相同性を見出し、本症へのウイルス感染の関与を示唆した²⁶⁾。自己免疫疾患の発症機序におけるウイルス感染の関与は古くより考えられてきており、ウイルス抗原と自己抗原の相同性によって自己抗体が出現する機序はmolecular mimicryと言われているが、自己抗体の反応するエピトープは単一ではないことより、この説のみでは本症における自己抗体出現のすべては説明できない。

最近では、molecular mimicry説と、自己抗原が何らかの形で抗原提示された特異な免疫応答を引き起こすantigen driven説を組み合わせたepitope progression仮説も提唱されている。これは、ウイルス感染が引き金になって相同性を有する部位の抗体が産生されると、交差反応により形成された自己抗原・抗体免疫複合物がさらに免疫応答系に提示され、あるいは自己抗原を結合したB細胞が抗原提示細胞となってT

細胞を刺激し、最初のエピトープ近傍の新たなエピトープに対するクローンが刺激され自己抗体の産生を導くようになるとする考えである²⁷⁾。

VIII. 抗核抗体は遺伝子情報を変えうるか？

1975年Alarcon-Segoviaらは、本症患者血中にウラシルに対して特異的な抗RNA抗体が存在することを報告し²⁸⁾、この抗体がコラーゲン遺伝子情報に対して影響を与えることによってコラーゲン産生が増加するとの仮説を提唱した。しかしながら、高分子である免疫グロブリンが生きた細胞の膜を通過して、核に達しうるのかという疑問が当初より投げかけられ、後に別のグループによりRNAを沈降させたのは免疫グロブリンではなく、low density lipoproteinであることが明らかにされた²⁹⁾。

IX. 遺伝因子と環境因子

本症では、家系内多発例が知られていること³⁰⁾、血縁者においても高率に抗核抗体が陽性となること³¹⁾、特定の抗核抗体と相関するHLAが存在すること³²⁾などより、その発症に何らかの遺伝因子が関与していることは疑いもない。

しかしながら、美容外科手術で使用されたパラフィンやシリコン³³⁾、トリプトファン製剤³⁴⁾、粗悪な食用油³⁵⁾などが強皮症類似の病態を引き起こすことが知られており、また定型的な汎発性強皮症においてもその発症に有機溶媒との接触が関与しているとする考えもあり³⁶⁾、本症の発症の引き金として多種に及ぶ環境因子が係わっているものと考えられる。

最近、本症における遺伝因子と環境因子を考える上で極めて興味ある事実が発表された。ArnettらはOklahomaにおけるChoctaw族のインディアンにおいて極めて高率に抗トポイソメラーゼI抗体陽性の本症が発症することを報告したが³⁷⁾、全く同一のHLAを有し他地域に居住する同じ種族では全く強皮症の発症がみられなかったという。遺伝因子と環境因子との関連を追求する上で今後の研究の発展が待たれるところである。

文 献

- 1) 竹原和彦：強皮症の病因に対するアプローチ，皮膚病診療，14：785～789，1992。
- 2) 竹原和彦・菊池かな子：汎発性強皮症の発症機序，臨床分子医学：805～810，1993。

- 3) LeRoy, E.C. : Connective tissue synthesis by scleroderma skin fibrosis in cell culture, *J Exp. Med.*, 135 : 1351~1362, 1972.
- 4) Perlish, J.S., Bashey, R.I., Stephens, R.E. et al : Connective tissue synthesis by cultured scleroderma fibroblasts. I. in vitro collagen synthesis by normal and scleroderma dermal fibroblasts. *Arthritis Rheum*, 19 : 891~901, 1976.
- 5) Buckingham, R.B., Prince, R.K., Rodnan, G.P. et al. : Increased collagen accumulation in dermal fibroblast cultures from patients with progressive systemic sclerosis (scleroderma). *J. Lab. Clin. Med.*, 92 : 5~21, 1978.
- 6) Jimenez, S.A., Feldman, G., Bashey, R.I. et al. : Coordinate increase in the expression of type 1 and type 3 collagen genes in progressive systemic sclerosis fibroblasts. *Biochem.* 237 : 837~843, 1986.
- 7) Kikuchi, K., Hartl, C.W., Smith, E.A. et al. : Direct demonstration of transcriptional activation of collagen gene expression in systemic sclerosis fibroblasts : Insensitivity to TGF β 1 stimulation. *Biochem Biophys Res. Commun.*, 187 : 45~50, 1992.
- 8) Peltonen, J., Kahari, L., Jaakkola, S. et al. : Evaluation of transforming growth factor β and type I procollagen gene expression in fibrotic skin diseases by in situ hybridization. *J. Invest. Dermatol.*, 94 : 365~371, 1990.
- 9) Claman, H.N., Giorno, R.C., Seibold, J.S. : Endothelial and fibroblastic activation in scleroderma : The myth of the "uninvolved skin". *Arthritis Rheum*, 34 : 1495~1501, 1991.
- 10) Kahaleh, M.B., Sherer, G.K., LeRoy, E.C. : Endothelial injury in scleroderma. *J. Exp. Med.*, 149 : 1326~1335, 1979.
- 11) Kahaleh, M.B., LeRoy, E.C. : Endothelial injury in scleroderma, A protease mechanism. *J. Lab. Clin. Med.*, 101 : 553~560, 1983.
- 12) Shanahan, W.R., Korn, J.H. : Cytotoxic activity of sera from scleroderma and other connective tissue diseases. Lack of cellular and disease specificity. *Arthritis Rheum.*, 25 : 1391~1395, 1982.
- 13) LeRoy, E.C., Kahaleh, M.B., Mercurio, S. : A fibroblast mitogen present in scleroderma but not control sera. Inhibition by proteinase inhibitors. *Rheumatol. Int.*, 3 : 35~38, 1983.
- 14) Potter, S.R., Bienenstock, J., Lee, P. et al. : Clinical association of fibroblast growth promoting factor in scleroderma. *J. Rheumatol.*, 11 : 43~47, 1984.
- 15) Takehara, K., Grotendorst, G.R., Silver, R. et al. : Dipyridamole decreases platelet-derived growth factor levels in human serum. *Arteriosclerosis*, 7 : 152~158, 1987.
- 16) Igarashi, A., Takehara, K., Soma, Y. et al. : Mitogenic activities for skin fibroblasts in the sera from untreated scleroderma patients at the early stage. *Arch Dermatol Res*, 281 : 383~386, 1989.
- 17) LeRoy, E.C., Smith, E.A., Kahaleh, M.B. et al. : A strategy for determining the pathogenesis of systemic sclerosis : Is transforming growth factor β the answer?. *Arthritis Rheum*, 32 : 817~825, 1989.
- 18) Ignatz, R., Massague, J. : Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J. Biol. Chem.*, 261 : 4337~4345, 1986.
- 19) Ignatz, R., Endo, T., Massague, J. : Regulation of fibronectin and type I collagen mRNA levels by transforming growth factor- β . *J. Biol. Chem.*, 262 : 6443~6446, 1987.
- 20) Roberts, A., Sporn, M., Assoian, R. et al. : Transforming growth factor type β : Rapid induction of fibrosis and angiogenesis and collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 4167~4171, 1986.
- 21) Takehara, K., LeRoy, E.C., Grotendorst, G.R. : TGF- β inhibition of endothelial cell proliferation : alteration of EGF binding and EGF-induced growth-regulatory (competence) gene expression. *Cell*, 49 : 415~422, 1987.
- 22) Etoh, T., Igarashi, A., Ishibashi, Y., Takehara, K. : The effects of scleroderma sera on en-

- endothelial cell survival in vitro. *Arch Dermatol Res*, 282 : 516~519, 1990.
- 23) Etoh, T., Takehara, K., Igarashi, Y., Ishibashi, Y. : The effects of various growth factors on endothelial cell survival in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 162 : 1010~1016, 1989.
- 24) Ishikawa, H., Suzuki, S., Horiuchi, R., Sato, H. : An approach to experimental scleroderma. using urinary glycosaminoglycans from patients with systemic scleroderma. *Acta Derm-venereol*, 55 : 97~107, 1975.
- 25) Fox, P.K., White, D.D., Cavanagh, M., Davies, M.G., Wusterman, F. : Failure to demonstrate fibrotic changes in the skin of mice injected with glycosaminoglycan fractions from the urine of scleroderma patients. *Dermatologica*, 164 : 90~94, 1982.
- 26) Maul, G.G., Jimenez, S.A., Riggs, E. et al. : Determination of an epitope of the diffuse systemic sclerosis marker antigen DNA topoisomerase I : Sequence similarity with retroviral P 30 gag protein suggests a possible cause for autoimmunity in systemic sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86 : 8492~8496, 1989.
- 27) 山本一彦 : 自己抗体対応抗原の分子生物学的手法を用いた研究, *リウマチ*, 31 : 86~89, 1991.
- 28) Alarcon-Segovia, D., Fishbein, E. : Immunohistochemical characterization of the anti-RNA antibodies found in scleroderma and systemic erythematosus. *J. Immunol.*, 115 : 28~31, 1975.
- 29) Garcia, I., Wolbers, R., Tan, E.M. : Reaction between polyribonucleotides and low density lipoproteins in sera of patients with progressive systemic sclerosis. *J. Immunol.*, 126 : 706~708, 1981.
- 30) McGregor, A.R., Waston, A., Pandey, J.P. et al. : Familial clustering of scleroderma spectrum disease, *Am. J. Med.*, 84 : 1023~1032, 1988.
- 31) Takehara, K., Moroi, Y., Ishibashi, Y. : Antinuclear antibodies in the relatives of patients with systemic sclerosis. *Br. J. Dermatol.*, 112 : 23~33, 1985.
- 32) Kuwana, M., Kaburaki, J., Okano, Y. et al. : The HLA-DR and DQ genes control the autoimmune response to DNA topoisomerase I in systemic sclerosis (scleroderma). *J. Clin. Invest.*, 92 : 1296~1301, 1993.
- 33) 竹原和彦 : 美容外科手術後強皮症. *皮膚臨床*, 35 : 369~374, 1993.
- 34) Hertzman, P.A., Blevins, W.L., Mayer, J. et al. : Association of the eosinophilia-myalgia syndrome with the ingestion of L-tryptophan. *N. Eng. J. Med.*, 322 : 869~873, 1990.
- 35) Tabuenca, J.M. : Toxic-allergic syndrome caused by ingestion of rapeseed oil denatured with aniline. *Lancet* II : 567~568, 1981.
- 36) Walder, B.K. : Solvents and scleroderma. *Lancet*, 2 : 436~437, 1965.
- 37) Arnett, F.C., Howard, R.F., Tan, F. et al. : Increased prevalence of systemic sclerosis in a native American tribe in Oklahoma : Association with an American HLA haplotype. *Arthritis Rheum.*, 39 : 1362~1370, 1996.
-