

20000643

厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業

## 混合性結合組織病に関する研究班

-混合性結合組織病の病態、治療と抗U1RNP抗体に関する研究-

### 平成12年度 研究報告書

平成13年3月

主任研究者 近藤啓文

**Annual Report of the Ministry of Health, Labour and Welfare,  
Mixed Connective Tissue Disease Research Committee**

Contents

1. A nationwide epidemiologic survey of patients with mixed connective tissue disease using personal case records of clinical findings .....	8
Hirobumi Kondo (Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
2. Multicenter prospective study of cases with anti-U1RNP antibody alone-2 .....	12
Hirobumi Kondo (Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
3. Modification of clinical features by change of anti-U1RNP antibody titer .....	17
Jun Okada (Department. of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
4. Analysis of vasoconstrictive factor contributing to the vascular abnormality in pulmonary hypertension of MCTD .....	22
Masako Hara (Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University)	
5. Histochemical study on the effect of corticosteroids on the pulmonary hypertension .....	27
Shunji yoshida (Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine)	
6. A nationwide survey on the treatment of mixed connective tissue disease (MCTD) with pulmonary hypertension (PH) .....	31
Shunji yoshida (Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine)	
7. The frequency and clinical features of pulmonary hypertension in patients with anti-U1RNP antibody .....	35
Jun Okada (Department. of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
8. Pathological changes associated with anti-U1RNP autoantibody-producing Th1 cells in MRL/Mp- <i>Fas<sup>lpr</sup></i> mice .....	41
Tsuneyo Mimori (Department of Rheumatology and Clinical Immunology, University of Kyoto)	
9. Analysis of gene expression profile associated with anti-U1RNP autoantibody production .....	44
Yoshikata Misaki (Department of Allergy and Rheumatology, University of Tokyo)	
10. Detection of anti-U1 RNP antibodies reactive with the conformation-structure on U1 RNP .....	49
Yoshinari Takasaki (Division of Rheumatology, Department of Medicine, Juntendo University School of Medicine)	
11. Endothelial-cell-binding activity of anti-U1-ribonucleoprotein antibodies in patients with connective tissue diseases .....	56
Shinichi Aotsuka (Division of Clinical Immunology, Clinical Research Institut)	
12. Detection of <i>Chlamydia pneumoniae</i> in MCTD patients using PCR and ELISA .....	61
Hidero Kitasato (Department of Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
13. Monoclonal mouse anti-thrombomodulin antibodies bind to endothelial cells in vitro and induce cytokine secretion and adhesion molecule expression .....	65
Taku Yoshio (Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Jichi Medical School)	
14. Gene sequence analysys on the human 19th genome from an MCTD patient comparison with the genome database .....	69
Mitsuo Okubo (Department of Transfusion Medicine and Cell Therapy, Saitama Medical Center, Saitama Medical School)	

[ I ]

主任研究者報告

## 混合性結合組織病の病態、治療と抗U1RNP抗体に関する研究

主任研究者 : 近藤 啓文  
所属施設 : 北里大学医学部内科

### 研究要旨

混合性結合組織病（以下MCTD:mixed connective tissue disease）は抗U1RNP抗体を必須の自己抗体とする疾患であるが、本抗体の疾患特異性は必ずしも高くない。抗U1RNP抗体の単独陽性無治療例とMCTDの病態との関連をプロスペクティブに解明するため、平成11年度よりプロジェクト研究を開始した。分担研究者と新たに参加した研究協力者の協力を得て、今年度で目標である本抗体陽性無治療例100例の集積を達成した。その臨床像、抗体のプロファイル、HLAのDNAタイピングをデータベース化した。分析し得た70症例は単独陽性48例、他の抗体併存22例で、MCTD診断基準を満足したのは41%であった。来年度よりプロスペクティブに臨床像の追跡が開始される。この血清とDNAをインフォームド・コンセントを得て、事務局で保管し、次年度以後の新しいプロジェクト研究に用いる計画である。

MCTDの主な死因である肺高血圧症(PH)について、①東條班で行った膠原病に合併したPHの全国調査に引き続いて治療に関して二次調査が行われた（回収率50%で145例）。ステロイド薬使用の短期的有効性が示唆された。②プロスタサイクリン製剤（エポプロステノール）のわが国での治験が決定した。MCTDのPH患者に使用できるよう治験へ協力する。

PHの成因に関する研究では、①クラミジア感染症との関連（北里）、②エンドセリン-1の転写活性に重要な遺伝子部位の解明（原）、③抗U1RNP抗体自身の抗内皮細胞抗体活性についての研究（青塚）、④抗トロンボモジュリン抗体のサイトカイン活性を介する系での血管障害（吉尾）、で研究の進展があった。

抗U1RNP抗体の発生機序については、①プリスタン投与マウスを用いた抗U1RNP抗体産生に関与する遺伝子解析（三崎）、②MRL/MP-Fas<sup>lpr</sup>マウスにおける本抗体産生を刺激するTh1細胞の解析（三森）、についてそれぞれ成果が認められた。③MCTD患者にマイクロキメリズムの存在とその意義が大久保によって解析された。一方、高崎はU1RNP抗体の高次構想を認識する抗体の存在を明らかにした。岡田は本抗体陰性化17症例を解析し、陰性化に伴い多彩な自己抗体の出現を示した。今後、本抗体の病態形成における具体的な役割が解明されることが期待される。

MCTDの臨床調査個人票(3595名)が東京都更新例などを除き全国から集計された。これを電子媒体化した。全体の70.8%がMCTDの診断基準の合致例であることが明らかになった。次年度からこのデータベースを用いて疫学的調査を計画する。

「混合性結合組織病並びに関連する疾患の難治性病態とその治療」について第28回臨床免疫学会総会で合同シンポジウムとして行われた。MCTDのPHと髄膜炎などの治療法について集中的に議論された。

分担研究者 三崎 義堅  
東京大学医学部附属病院内科  
講師  
三森 経世  
京都大学大学院医学研究科臨床免疫学  
教授  
高崎 芳成  
順天堂大学医学部膠原病内科  
助教授  
岡田 純  
北里大学医学部内科  
助教授  
原 まさ子  
東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター  
教授  
北里 英郎  
北里大学医学部微生物学  
講師  
吉田 俊治  
藤田保健衛生大学医学部感染症リウマチ内科  
助教授  
大久保 光夫  
埼玉医科大学総合医療センター輸血部・細胞治療  
講師  
青塚 新一  
国立国際医療センター研究所  
室長  
吉尾 卓  
自治医科大学リウマチ膠原病教室  
講師

研究協力者 塩沢 和子  
国立加古川病院内科  
内科医長  
山田 秀祐  
聖マリアンナ医科大学 リウマチ膠原病リウマチ内科  
助教授  
堤 明人  
筑波大学医学専門学群 膠原病リウマチ膠原病内科  
講師  
縄田 泰史  
千葉大学医学部第二内科免疫学教室  
助手  
多田 芳史  
佐賀医科大学内科  
助手  
岡野 哲郎  
北里大学医療衛生学部 臨床免疫学  
講師

## A. 研究目的

混合性結合組織病（以下MCTD）は特定疾患の1つとして厚生省調査研究班で長期間研究が行われてきた。平成5年度からの東條毅班長の下での成果を継承し、新しい進展をめざす3つの研究目的を設定した。すなわち、①本症を特徴づける抗U1RNP抗体の臨床的意義をMCTDの病態との関連から解明、②MCTDに合併した肺高血圧症(PH)の病態の解明と治療法の確立、③抗U1RNP抗体の産生機序の解明、である。

1. 抗U1RNP抗体の臨床的意義：MCTDの特徴の1つ

は本抗体の単独陽性である。班のプロジェクト研究として早期無治療の単独陽性例を抽出し、他の抗核抗体併存例を対照としてプロスペクティブに臨床経過を追跡する。そして本抗体陽性例の自然歴を究明し、MCTDの病態との関連を明確にする。遺伝的背景としてHLAの検索で行う。

2. MCTDにおけるPHの病態と治療：PHはMCTDで最も重要な臓器病変である。その病態は肺血管病変であるが、その成立にクラミジアなど微生物感染の関与、エンドセリン1、あるいは抗U1RNP抗体などの自己抗体の関

与を明らかにする。東條班が行った膠原病合併PHの全国疫学調査に基づき、MCTDなど膠原病に合併したPHの治療に関する二次調査を実施し、治療法確立のヒントを得る。さらにプロスタサイクリン製剤、ステロイド療法、免疫療法の治療効果を検証し、本症の予後の改善を目指す。

3. 抗U1RNP抗体の産生機序の解明：本抗体の産生機序の解明は病因、病態の解明への有力な手掛りとなるばかりでなく、本抗体の産生を制御することができれば本症の根本的治療につながる可能性がある。本抗体の産生に関与する遺伝子の解明も班の研究目的とする。

## B. 研究方法

分担研究者と今年度より6名の研究協力者の参加を得て、研究班を形成し、班全体でプロジェクト臨床研究を行う。その課題として①抗U1RNP抗体の臨床的意義について、及び②PHの治療、を取り上げた。

①のプロジェクト研究：本年度も研究者の施設を初診した無治療の抗U1RNP抗体陽性患者を抽出し、その臨床像を調査表に記載し、患者血清の抗核抗体の免疫沈降法による検索、HLAのDNAタイピングの検索を行った。登録は今年度で目標症例数を達成したので、今後1年毎に追跡調査を予定している。このプロスペクティブ研究では本抗体単独陽性例と他の疾患標識抗体併存例を比較し、本抗体のMCTDの病態形成における意義を研究する。採取された血清とDNAを患者から再同意を得てデータバンク化する。

②のプロジェクト研究：東條班で調査した全国の膠原病に合併した肺高血圧症患者について病態、治療に関する二次調査を行った。特定疾患に伴う肺高血圧症治療研究班と共同で本症に合併した肺高血圧症の治療薬としてプロスタサイクリン製剤の治験への参加を検討する。

各個研究の主なテーマとして①抗U1RNP抗体の産生機序の解明：4つの異なった方法で4名の分担研究者により研究する。②PHの発症機序に関する研究：各個研究として5名の分担研究者により各方面から行った。

全国からMCTD臨床個人調査票を集計し、MCTD診断基準の合致率を検討した。

## C. 研究結果

1. 抗U1RNP抗体の臨床的意義：プロジェクト研究①として、分担研究者及び新たに加わった研究協力者の施設における抗U1RNP抗体陽性の初診無治療の症例を100例登録した。その際、臨床所見、検査所見のデータを記載した調査表を作成した。免疫沈降法とELISAで抗体を測定し（研究協力者岡野）、HLAのDNAタイピングを行った。登録数は100例に達し、そのうち調査票が回収できた70例では、MCTDが41%、SLEが26%を占めた。抗U1RNP抗体単独陽性48例、他の抗体併存例が22例であった。HLAのDNAタイピングではDRB1\*0901が高頻度であった。この研究は次年度から100例の経過を観察して集計する。今回得られた血清、及びDNAを患者のインフォームド・コンセントを得て保存し、MCTD及び抗U1RNP抗体の発現に関連する遺伝子の解析に用いられるよう当施設の倫理委員会に計画書を提出し承認を得た。各施設でもこれに沿った同意を患者から得よう倫理委員会に計画書、同意書を提出し、承認を得る計画である。

各個研究では、経過中に陰転化した症例を分析し（岡田）多様な臨床所見と多彩な自己抗体をもつ特徴をみだし、単独陽性例との差を明かにした。

2. PHの病態と治療：プロジェクト研究②東條班で1998年行った膠原病に合併するPHの全国調査に基づき、治療に関する二次調査を行った。回収率は50%と比較的低率であった。調査結果として、ステロイド薬の有効性を示すデータが得られ、今後の治療ガイドラインの作成に参考になると考えられた。

PHに関する各個研究として、吉田はステロイドの有効性をモノクローリン投与ラットで組織化学的に示した。岡田は抗U1RNP抗体陽性患者ではPHが高頻度に出現することをドップラー心エコー法で明らかにした。PHの早期診断、早期治療を可能にする有力な手段である。PHの発症に関連する各個研究として4つの研究が行われた。①クラミジア感染の関与の研究では、感染が抗体価からは示唆されるが、白血球や肺動脈を用いた遺伝子レベルの検索では確認できなかった（北里）。②原はエンドセリン-1の転写活性に重要な遺伝子部位を明らかにした。今後PH発症との関連へと研究が発展することが期待される。③抗U1RNP抗体自身を抗内皮細胞抗体活性があることが示され、PHなど血管病変との関連が注目された（青塚）。④PH患者で高値を示す抗トロンボモジュリン抗体が血管内皮

障害を呈する機序としてサイトカインの活性化を介する成績が吉尾によって示された。

3. 抗U1RNP抗体の産生機序に関する各個研究：モデル動物の実験として①プリスタン投与マウスにおける本抗体の産生に関わるB細胞遺伝子の解析が行われた（三崎）。②MRL/Mp-Fas<sup>pr</sup>マウスにおける本抗体産生を刺激するTh1細胞についての研究（三森）で成果が認められた。MCTD患者にマイクロキメリズムの状態が認められることからその19番染色体上のRNP-A蛋白をコードする遺伝子を分析し、その自己免疫反応に関与する可能性を示唆した（大久保）。抗体の測定系としてU1RNPの高次構造を認識する測定方法の有用性が示された（高崎）。

4. 全国からのMCTD患者臨床調査個人票（3595名、東京都更新分など未着）を電子媒体化した。これを用いて本症の診断基準合致率を検査したところ、約30%は診断基準を満足しなかった。合致例（確実群）では共通所見の頻度が高く、PHなどの頻度も高かった。

#### D. 考案

MCTDの必須な自己抗体は抗U1RNP抗体であるが、この自己抗体は頻度は低いがRaynaud症候群など膠原病類縁疾患で広く検出される。MCTDにおいてその臨床的、病因的意義に疑問がもたれた理由である。この点を明らかにすることが我々のプロスペクティブ研究の目的である。今年度の成績では本抗体陽性ではMCTDが最も多く、SLEが続いている。このような追跡調査研究は他に例がなく、将来の病像の変化が注目される。広義の膠原病オーバーラップ症候群の中でMCTDの临床上に占める意義が明らかになることが期待される。

MCTDの臨床で最も重要な病変はPHで、膠原病の中でMCTDに高頻度で合併することが東條班の疫学調査によりで明らかになった。そこで、治療を中心に二次調査が行われた。回収率は50%とけっして高くはないが、一次調査（1998年）との間に日時がたち過ぎたためと考えられた。治療薬としてステロイド薬の短期的有効性を示唆する結果であった。治療に関してはプロスタサイクリン持続注入剤の有用性が米国で示され、わが国でも治験が行われることが決定した。班としてこれに協力する計画である。

PHの病態や治療に関する各個研究ではステロイド薬の有用性を示唆するモデル動物の成績やドップラー心エコーの診断的有用性を示唆する成績が報告された。エン

ドセリン-1の転写活性に重要な遺伝子部位が判明し、本疾患のPHとの関連が明らかになることが期待される。

抗U1RNP抗体発生機序に関する各個研究では、モデル動物を用いて関与する抗体産生を制御する遺伝子の解析、マイクロキメリズムに関連して遺伝子の解析など遺伝子レベルでの研究で進展がみられた。しかし、抗体産生を制御して治療に結びつけるには多くの問題が残されている。

MCTD臨床調査個人票が全国から集積され、電子媒体化が行われた。集計された患者情報によるとMCTD診断基準満足例は71%にすぎないことが判明した。個人票に未記入部分が多いことも明らかになった。そこで、記入項目の一部を削減した新しい個人票を作成した。不満足例についての取り扱いは今後の検討課題である。

#### E. 結論

MCTDの特徴的自已抗体である抗U1RNP抗体陽性の無治療患者について、MCTDの病態との関連を追求するプロスペクティブ研究を開始した。MCTDのPHに関する研究では、病態に関して血管内皮細胞を用いた研究などで成果が得られた。その治療に関しては、ステロイド薬の有効性を示す成績は得られた。プロスタサイクリン製剤の治験については計画の段階である。抗U1RNP抗体の産生機序について各個研究で行われ、それぞれ進展がみられた。

#### F. 健康危機管理情報

MCTDに関連する情報はなかった。

[Ⅱ]

分担研究者報告

## 1. 混合性結合組織病臨床調査個人票からのMCTDの疫学的調査

主任研究者 : 近藤 啓文  
研究協力者 : 岡田 純  
所属施設 : 北里大学医学部内科

### 研究要旨

全国から集計されたMCTDの臨床調査個人票(3595名)を電子媒体化した。東京都の更新分など数県からの個人票の欠落はあるが、全国から更新3084名、新規511名が集計された。今年度はMCTD診断基準<sup>1)</sup>の合致例(確診群)の抽出を試み、病像を全申請症例と比較した。

確診群は2544名で全体の70.8%を占めた。全症例の男女比は8.2:91.7、年齢のピークは50歳代と確診群と差がなかった。MCTD診断基準の共通所見の頻度では両群に差がなかったが、抗U1RNP抗体不明例が全症例の12.4%、混合所見を認めない例が17.8%に認められた。混合所見の各項目の頻度では、全症例と比べ確診群の頻度が少しづつ高かった。その他の所見として、肺高血圧症、持続性蛋白尿、近位部の皮膚硬化の頻度も確診群で高かった。

MCTDの個人票の記載状態をみると、その項目数が多いためか、不明の頻度が高く、記載項目の絞り込みが必要と考えられた。

### A. 目的

MCTDは特定疾患の1つとして1993年から医療費の補助が得られるようになった。そのため診断基準も整備された。1998年度にMCTDの全国的に統一された臨床調査個人票が新たに作成され、1999年度より用いられている。

この個人票は主治医によって記載され、申請に用いられている。個人票は全国の都道府県から主任研究者のもとに送られ、電子媒体化された。これによって本症と診断された患者の臨床所見などの集計が可能になった。

今年度はMCTDと診断されて申請された患者のうちMCTDの診断基準の合致例(確診群)の病像を解析した。

### B. 対象・方法

更新分が未着の東京都など数県を除く全国44都道府県から調査個人票が集計された。1999年新規申請

分と更新分に分けて表1に示した。その総数は3595名であった。すべての項目を医師のコメントを含めてコンピューターに入力し、電子媒体化した。

このデータを用いて、個人票の各項目からMCTD診断基準合致例を抽出した。この合致例(確診群)と全体像をMCTDの診断項目の頻度で比較した。

### C. 研究結果

#### 1. 臨床調査個人票からみたMCTD

全申請症例は3595例で1999年の新規診断例511例(14.2%)と更新例3084例(85.8%)に分けられた。男女比は8.2:91.7と女性に圧倒的に多い。このうち診断基準合致例は2544例(70.8%)であった。この確診群の男女比は8.7:91.3とほとんど変わらなかった。

両群の男女比と年齢分布を図1に示した。女性のピークは50歳代をピークに分布していることが判明した。

## 2. 臨床所見の頻度

全申請症例と確診群でMCTDの診断基準に用いられている項目による満足度を表2に示した。Raynaud現象が95%以上と両群ともに高率で、指なし手背の腫脹も90%と高頻度であった。全症例では抗U1RNP抗体の陽性率が86%であった。混合所見も82.2%と低いいため、全体として71%が診断基準を満足したにすぎなかった。

MCTDの混合所見の陽性頻度を両群に分けて表3に示した。全申請症例の頻度が確診群と比べやや低い傾向が認められるが、その理由として不明の頻度が全申請症例で高いことが挙げられる。SLE様所見では多関節炎の頻度が高く、強皮症様所見では、手指に局限した皮膚硬化が、多発性筋炎様所見では筋力低下が高頻度であった。一方、不明の頻度が最も高いのが筋電図所見で、肺機能検査、消化管造影検査が続いている。

その他の所見として、肺高血圧症、持続性蛋白尿、近位部の皮膚硬化の頻度が確診群でいずれも高かった。

## D. 考察

臨床調査個人票の記載内容を電子媒体化した。疫学研究の基礎資料となることが期待される。しかし、患者数が最も多いと考えられる東京都からの更新例がない点が疫学資料として問題である。データの嚴重な管

理のもとに分担研究者以外にも多くの研究者が利用可能となった。今年度の分析は全申請症例のうちMCTD診断基準合致例(確診群)を抽出し、両群の比較を行った。MCTDの診断基準は複雑であるが、コンピューターに入れたため合致症例を抽出することは容易であった。申請全症例にこの基準をあてはめてみると、診断基準合致症例は71%と低頻度であった。その理由として診断基準が複雑で、項目数が多く、その中には検査所見が含まれるため不明項目が少なくないからである。臨床的にはMCTDと考えられるが、診断基準を満足しない症例が存在することが示唆された。とくに抗U1RNP抗体の有無が不明の例が問題である。このような症例をMCTDとすべきか、これより除外すべきかは今後の重要な検討課題である。

## E. 結論

全国からのMCTDとして申請された臨床調査個人票を電子媒体化した。申請症例のうちMCTDの診断基準に合致したのは70.8%にすぎなかった。

## 文 献

1. 東條毅：厚生省特定疾患混合性結合組織病調査研究班平成7年度研究報告書,1993.1-3

表 1

## 県別患者数

県名	北海道	青森県	岩手県	宮城県	秋田県	山形県	福島県	茨城県	栃木県	群馬県	埼玉県	千葉県	東京都	神奈川県	新潟県	富山県	石川県	福井県	山梨県	長野県	岐阜県	静岡県	愛知県	三重県
新規申請	6	10			4	4	13		7	7	38	27	70	41	18	1	5	6		8	3	16	29	3
更新	118	45	70		50	46	95	57	44	41	171	99		211	90	44		21	22	30	21	75	145	51
総数	124	55	70		54	50	108	57	51	48	209	126	70	252	108	45	5	27	22	38	24	91	174	54

県名	滋賀県	京都府	大阪府	兵庫県	奈良県	和歌山県	鳥取県	島根県	岡山県	広島県	山口県	徳島県	香川県	愛媛県	高知県	福岡県	佐賀県	長崎県	熊本県	大分県	宮崎県	鹿児島県	沖縄県
新規申請	6	15	58			3	2		8	20	7	7	11	9	2			21		2	9	1	14
更新	32	69	311	234		32	15	35	64	85	53	37	26	75	31	151	29	63		69	36	42	49
総数	38	84	369	234		35	17	35	72	105	60	44	37	84	33	151	29	84		71	45	43	63

図 1

### 年齢別比較

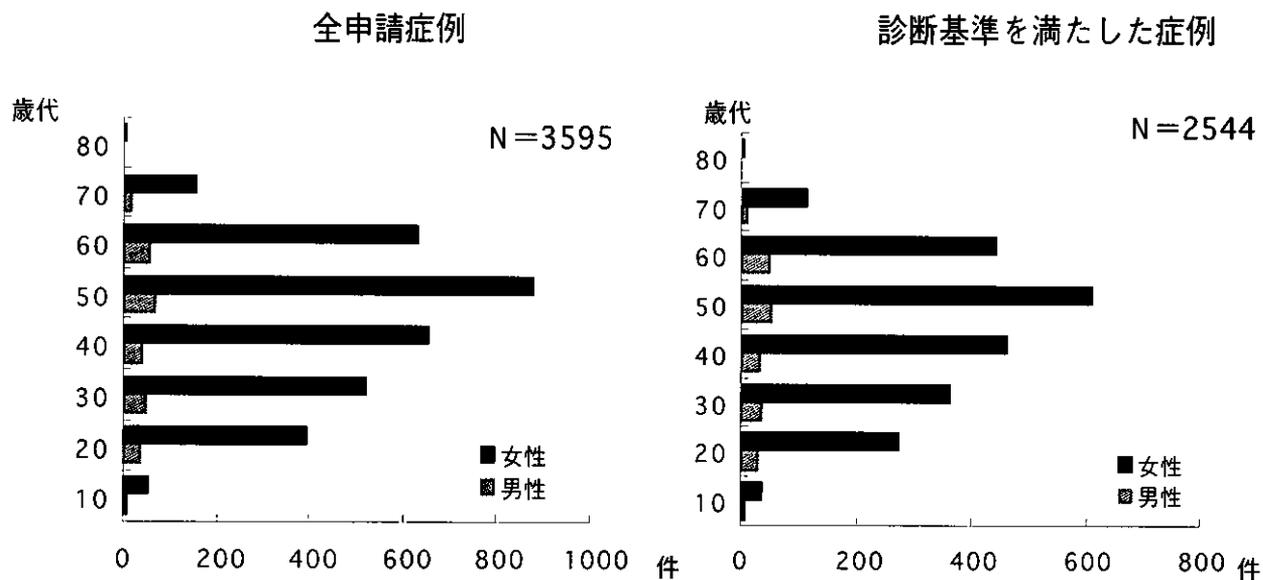


表 2

### 共通所見、免疫学的所見および混合所見の比較

	全申請症例 (3595)			診断基準を満たした症例 (2544)		
	あり	なし	不明	あり	なし	不明
レイノー現象	95.4%	4.2%	0.4%	97.1%	2.5	0.4%
指ないし手背の腫脹	90.7	8.0	1.3	94.1	4.8	1
抗U1RNP抗体陽性	85.8	1.9	12.4	100	0	0
混合所見	82.2	17.8	0	100	0	0

( ) : 症例数

表 3

## MCTDの混合所見比較

	全申請症例 (3595)			診断基準を満たした症例 (2544)		
	あり	なし	不明	あり	なし	不明
多発関節炎	81.1%	16.9%	2.0%	85.5%	12.8%	1.7%
リンパ節腫脹	35.4	59.0	6	39.0	55.6	5.5
顔面紅斑	37.2	60.2	2.6	37.6	60.2	2.2
心膜炎	10.3	81.5	8.2	11.6	81.2	7.2
胸膜炎	11.4	82.2	6.4	13.2	81.3	5.6
白血球減少	41.1	43.9	14.9	48.8	45.2	6.0
血小板減少	10.0	70.0	20.0	11.8	75.4	12.8
手指に局限した皮膚硬化	64.7	32.5	2.9	76.3	22.1	1.6
肺線維症	25.5	63.3	11.0	30.3	60.2	9.5
肺拘束性障害	16.7	50.4	32.9	21.2	53.4	25.4
肺拡散機能低下	15.1	41.3	43.6	19.7	42.7	37.6
食道蠕動低下	13.5	50.7	35.8	17.8	52.9	29.2
筋力低下	38.9	56.1	5.1	46.2	49.4	4.4
筋原性酵素	26.7	55.3	18.1	36.2	56.0	7.8
筋電図上の筋原性異常所見	8.8	28.6	62.6	11.8	29.7	58.5

() : 症例数

## A NATIONWIDE EPIDEMIOLOGIC SURVEY OF PATIENTS WITH MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE USING PERSONAL CASE RECORDS OF CLINICAL FINDINGS

Kondo H and Okada J

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine

Three thousand five hundred and ninety-five personal case records with MCTD were collected nationwide. These data were inputted into our personal computer and kept strictly in our institution. We selected 2544 case records (70.8%) compatible with the diagnostic criteria for MCTD proposed Japanese MCTD Committee. The other patients did not fulfill this criteria because of no data of anti-U1RNP antibody(12.8%) or no mixed symptoms of MCTD(17.8%). The compatible group for MCTD criteria showed higher frequencies of mixed symptoms and pulmonary hypertension.

## 2. 抗U1RNP抗体陽性症例の臨床経過に関するプロスペクティブ多施設共同研究 - 2

分担研究者 : 近藤 啓文  
研究協力者 : 岡田 純  
所属施設 : 北里大学医学部内科

### 研究要旨

抗U1RNP抗体単独陽性例について、その自然歴を多施設でプロスペクティブ研究を行い、抗U1RNP抗体陽性例の臨床像とMCTDとの関連を明らかにする。

MCTD 班の班員の施設で1999年1月より2001年3月間に初診した患者のうち抗U1RNP抗体が陽性症例を全例登録。ただし、初診前1年以上のステロイド薬、免疫抑制薬服用歴のある患者は除外。登録時に、採血し抗U1RNP抗体は性状を免疫沈降法で確認、HLA-DR, DQを測定した。登録された症例の臨床症状、検査成績、予後を1年毎に追跡調査する。抗U1RNP抗体単独陽性を対象とし、抗U1RNP抗体陽性でかつ抗DNA抗体または抗Sm抗体陽性例を対照としてプロスペクティブ研究を行う。なお、平成12年度より、共同研究施設を新たに5施設増やした。

2001年3月までの登録状況は、100例で、そのうちプロトコルが回収された解析可能症例は70例であった。疾患別内訳は、MCTD29例、SLE18、SSc8、UCTD9、シェーグレン症候群3、RA2、Discoid lupus1、Overlap症候群1例であった。初診時の年齢は40.6±16.1歳で、初発症状はレイノー現象が50例と最も多かった。抗U1RNP抗体単独陽性群は、48例で、対照となる抗DNA抗体または抗Sm抗体陽性例は22例であった。臨床症状では、レイノー現象70%、手指腫脹51%、多発関節炎56%、肺線維症17%にみられた。検査では、リウマチ因子48%、白血球減少43%、抗SSA抗体39%、抗DNA抗体29%、抗Sm抗体23%であった。HLAの検討では、DRB1 04\* 25%、09\* 18%に、一方、DQB1は03\* 62%、06\* 46%にみられた。従来MCTDおよび抗U1RNP抗体陽性例の臨床像に一致しており、解析の妥当性が明らかにされたため、さらに前向き調査を進め、抗U1RNP抗体の臨床的意義を明らかにする。

### A. 研究目的

MCTDの自然歴や本疾患の中心的な自己抗体である抗U1RNP抗体陽性例の自然歴に関するいくつかの検討はあるが<sup>1-4)</sup>、いずれもretrospectiveな検討で、対照試験も行われていない。そこで、MCTDの疾患概念をより明確にすると共に、MCTDにともなう臓器病変の出現の過程を明らかにすることを目的に、多施設共同研究により、抗U1RNP抗体単独陽性例の臨床症状、検査成績、予後を検討する。また、対照として、疾患特異性抗核抗体の共存を認める症例を用いる。この研

究を通して本抗体単独陽性がMCTDの疾患形成に関与するかを明らかにする。昨年度に引き続いて、症例の集積状態および登録された疾患の臨床像を検討した。

### B. 対象・方法

登録期間および共同研究施設を一部変更した。患者登録:1999年1月より2001年3月の間に、共同研究対象施設を初診した患者のうち抗U1RNP抗体が陽性

症例を全例登録した。除外条件として：初診前1年以上の間ステロイド薬および免疫抑制薬服用歴のある患者とした。登録：上記条件を満たした患者について、調査票に従って、症状、検査、治療歴を記入し登録する。同時に登録時に採血し、抗U1RNP抗体の性状を免疫沈降法で確認し、HLA DR/DQをDNAタイピングにて確認した。登録された症例の臨床症状、検査成績、予後を調査票に基づき追跡調査を1年ごとに調査する。3年目には再度採血し、この時点の抗核抗体の抗U1RNP抗体単独陽性を対象とし、抗U1RNP抗体陽性でかつ抗DNA抗体または抗Sm抗体陽性例を対照としたプロスペクティブ研究で、両群間で臨床症状、自己抗体、HLA抗原、予後等の差異について検討する。参加施設は、慶応大学医学部内科、東京大学医学部附属病院内科、順天堂大学医学部膠原病内科、自治医科大学アレルギー膠原病教室、国立国際医療センター研究所膠原病内科、東京女子医大附属膠原病リウマチ痛風センター、藤田保健衛生大学医学部感染症リウマチ内科、国立加古川病院内科、聖マリアンナ医科大学リウマチ膠原病アレルギー内科、筑波大学医学専門学群膠原病リウマチアレルギー内科、千葉大学医学部第二内科学教室、佐賀医科大学内科、北里大学医学部内科。HLA DR/DQの検索にあたっては、患者からの同意を文書にて取得することとした。

## C. 研究結果

昨年度報告書で示した調査票を各施設に配布し、患者の登録を継続した。1999年1月より2001年3月の間の登録状況を、表1に示した。100例の登録があり、調査票が回収されたのは72例、HLA等の検査用の検体が提出されたものは51症例であった。70例が今回臨床症状の解析が可能であった。その結果を表1に示した。MCTD 29例、SLE 18例、UCTD 9例、SSc 8例、その他20例であった。

次に、出現する自己抗体により、抗U1RNP抗体単独陽性群(48例)と、非単独陽性群22例(抗DNA抗体、抗Sm抗体、抗Scl70抗体のいずれかが陽性)にわけて検討してみた。レイノー現象は、単独群で81.3%と非単独群45.5%に比べ有意に多かった。一方、リンパ節腫大、顔面紅斑は非単独群でそれぞれ50%、36.4%と単独群の21.3%、10.4%に比べ有意に多かった。しかし、強皮症および筋炎のコンポーネントの症状には有意差はなかった。肺高血圧症17.1%、Sjögren症候群15.7%、抗DNA抗体27.1%、抗Sm抗

体20.0%、抗topoisomerase I抗体1.4%、抗SSA抗体37.1%の頻度でみられた(表2)。

次に、HLAの測定が終了している50例でHLA-DR、HLA-DQの頻度について解析した。今回は中間報告のため、対照として、第12回国際HLAワークショップの日本人のHLAの頻度を用いた。DRB\*0401、DRB\*0901が多く見られ、DQBではDQB\*0301が多く、DQB\*0601、DQB\*0501が少ない傾向が見られた(表3)。

## D. 考察

抗U1RNP抗体陽性例の多施設プロスペクティブ研究を開始後<sup>5)</sup>、本年度は、参加施設も増やし、本年度中に目標の100症例の達成した。本年度の報告では、この中で、すでに臨床成績が利用できた70症例で検討した。

中間の臨床症状の解析では、抗U1RNP抗体単独陽性例は、MCTDの疾患概念に一致した臨床症状を有することを確認できた。本研究では、対照として、抗U1RNP抗体非単独例すなわち抗U1RNP抗体以外に抗DNA抗体、抗Sm抗体、抗topoisomerase I抗体等を有する症例としたが、単独例に比し症例数が半分と少ないことが明らかとなった。しかし、全症例が100例以上集積されれば、臨床像HLAの統計解析も可能と考えられ、次年度の成果が期待される。

また、患者の遺伝子解析に関して、厚生労働省、文部科学省から、患者インフォームドコンセント基準の提言がなされた。これをうけ、当研究班でも、すでに取得した患者からも再度この基準に基づいた書式にて患者からの同意を再度とるように一部計画変更し、患者の権利および保護につとめるようにした。

今後、登録された100例の追跡調査を行い、抗U1RNP抗体単独陽性例のプロスペクティブ研究を完成させる。

表1 対象症例の背景と疾患

疾患名	症例数	頻度(%)	初診時年齢
MCTD	29	41%	46.5±14.1
SLE	18	26%	25.8±8.60
UCTD	9	13%	46.3±15.1
SSc	8	11%	39.3±18.4
SJS	3	4%	50.4±18.0
RA	2	3%	36.1±59.4
Discoid lupus	1	1%	40
Overlap*	1	1%	25
合計	70	100	40.6±16.1

表2 臨床症状の比較

症状・検査	全例 (70)	抗U1RNP単独 (48)	抗U1RNP非単独 (22)	p-value
レイノー現象	70 %	81.3 %	45.5 %	0.0029
指ないし手の腫脹	51.4	56.3	40.9	n.s.
多発関節炎	55.7	52.1	63.6	n.s.
リンパ節腫	30.4	21.3	50	0.013
顔面紅斑	18.6	10.4	36.4	0.023
白血球減少	42.6	35.4	60	n.s.
手指に限局した皮膚硬化	35.7	37.5	31.8	n.s.
肺線維症	17.4	16.7	19	n.s.
筋力低下	15.7	18.8	9.1	n.s.
筋原性酵素上昇	18.8	21.3	13.6	n.s.

n.s.: not significant

表3 抗U1RNP抗体陽性例におけるHLAの頻度

HLA DRB1 Allele	登録例 (50)	対照 (195)	HLA DQB1 Allele	登録例 (50)	対照 (493)
1	8.8%	7.4%	1	0	0
4	25.5	21.5	2	1	1.3
7	1	0	3	36.5	28.9
8	12.7	12.7	4	16.3	24.6
9	17.6	10.8	5	13.5	10.6
10	0	0.5	6	23.1	32.2
11	1	5.4			
12	1	5.4			
13	4.9	8.7			
14	8.8	10.3			
15	13.7	15.3			
16	0	1.7			

## 文 献

1. Smolen JS, and Steiner G. Mixed connective tissue disease: to be or not to be? *Arthritis Rheum*, 1998;41:768-77.
2. LeRoy EC, Maricq HR, Kahaleh MB. Undifferentiated connective tissue syndromes. *Arthritis Rheum*, 1980 : 23:341-3.
3. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 1999 : 43:76-84.
4. Frandsen PB, Kriegbaum NJ, Ullman S, et al. Follow-up of 151 patients with high-titer U1RNP antibodies. *Clin Rheumatol*, 1996 : 15:254-60.
5. Hoffman RW, Sharp GC, Deutscher SL. Analysis of anti-U1 RNA antibodies in patients with connective tissue disease. Association with HLA and clinical manifestations of disease. *Arthritis Rheum*, 1995 : 38:1837-44.
6. 近藤啓文, 岡田 純: 抗U1RNP抗体陽性症例の臨床経過に関するプロスペクティブ多施設共同研究. 平成11年度厚生省MCTD班研究報告書, 2000: 5-8.

## MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF CASES WITH ANTI-U1RNP ANTIBODY ALONE-2

Kondo H and Okada J

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine

Disease associated with anti-U1RNP antibody was not well defined. To clarify the clinical entity of MCTD, we conducted a multi-center prospective clinical study in patients with anti-U1RNP antibody.

The study included consecutive patients referred to the centers for evaluation of connective tissue diseases between January 1999 and March 2001. During the three years of this study, medical records of clinical and laboratory data will be obtained. In addition, a questionnaire is used to identify any illness developed during follow-up period. All patients with anti-U1RNP antibody were entered to this study, except for the cases treated with corticosteroid. We intended to evaluate anti-nuclear antibody profiles using immunoprecipitation methods at time of start and end of this study. HLA-DR and HLA-DQ loci were measured by PCR methods.

One hundred cases were entered at this report. Seventy clinical records were received. Diagnosis of those cases were MCTD (29 cases), SLE (18), SSc (8), Sjögren syndrome (3), UCTD (9) and others (4). Age at first visit was  $40.7 \pm 15.9$  y/o. Group of anti-U1RNP antibody alone was 38 cases and control group of patients who were positive for anti-dsDNA antibody or anti-Sm antibody, was 21 cases. In 70 cases the clinical manifestations were present 70% in Raynaud phenomenon, 56% in arthritis, 48% in swollen hands or fingers, and 19% in pulmonary fibrosis. In laboratory findings, rheumatoid factor 49%, leukopenia 41%, anti-SSA antibody 38%. We examined HLA loci in 50 cases at present, and found DRB1 04\* 25%, 09\* 18% and DQB1 03\* 62% 06\* 46%. These frequencies were compatible with previous reports.

These data may suggest the clinical entity of MCTD. To clarify the significance of anti-U1RNP antibody, we need to complete this prospective study and analyze the data.

### 3. 抗U1RNP抗体抗体価の変化による臨床像の修飾

分担研究者 : 岡田 純<sup>1</sup>  
研究協力者 : 玉眞 桂子<sup>1</sup>、石川 章<sup>1</sup>、岡野 哲郎<sup>2</sup>、近藤 啓文<sup>1</sup>  
所属施設 : <sup>1</sup>北里大学医学部内科  
<sup>2</sup>北里大学医療衛生学部臨床免疫

#### 研究要旨

抗U1RNP抗体はMCTDの疾患標識抗体であるが、その臨床症状との関連は明確でない<sup>1,2)</sup>。そこで、抗U1RNP抗体の臨床的意義を明らかにするため、抗U1RNP抗体の陰性化した症例について、その臨床像と、抗体陰性化に伴う症状の変化を解析した。当院を受診した患者で、抗核抗体を蛍光抗体法、ELISA、免疫沈降法にて測定し、抗U1RNP抗体の陰性化が見られた症例を17例を抽出した。陰性化は、2重免疫拡散法およびELISAにて判定した。経過中、抗U1RNP抗体の陰性化がみられた17例の診断は、SLE 8例、MCTD 4例、SSc 2、UCTD 2、APS 1例であった。初診時年齢は33.3 ± 12.3歳、観察期間は13.5 ± 6.8年であった。症状の推移では、レイノー現象は9例にみられ経過中3例が消失したが、レイノー現象が持続していた4例は、抗centromere抗体(ACA)の出現がみられていた。関節炎は59%、発熱は50%、リンパ節腫大は70%と高率にみられたが、一過性で、最終観察時には消失する症例が多かった。また、皮膚硬化6 → 18%、肺線維症17 → 12%と低頻度に推移した。一方、抗SSA抗体(5 → 8例)、ANCA(1 → 2例)、ACA(0 → 4例)、抗リン脂質抗体(2 → 6例)と多彩な自己抗体の出現がみられた。持続陽性群との比較では、陰性化群は、レイノー現象は少なく、抗DNA抗体は有意に高率に認められた。抗U1RNP抗体の陰性化に伴い臨床症状が変化し、抗U1RNP抗体の陰性化する症例は、多彩な自己抗体が出現する背景を有することが推測された。

#### A. 目的

抗U1RNP抗体は、MCTD、SLE、SScなどの膠原病に出現し、レイノー現象、肺高血圧症との関連性等が指摘されているが、その病因的意義は明らかでない<sup>1,2)</sup>。また、抗U1RNP抗体は多くは、高力価で、疾患活動性との関連性は乏しいとされている。しかし、一部症例では、本抗体が陰性化することも報告されている。そこで、本抗体が陰性化した場合の症状を検討することで、本抗体の臨床症状との関連性、病因的意義を追求することが可能である。本研究では、抗U1RNP抗体の臨床的意義を明らかにするため、抗U1RNP抗体の陰性化した症例について、その臨床像と、抗体陰性化に伴う症状の変化を解析した。

#### B. 方法・患者

対象：1975年より2000年の間に北里大学病院膠原病内科を初診した患者のうち、抗U1RNP抗体が陽性症例より、以下の基準を満たす症例を抽出した。1) 抗核抗体を蛍光抗体法、ELISA、免疫沈降法にて測定し、初診時に抗U1RNP抗体が陽性の症例の中から、経過中に陰性化した症例。2) 抗U1RNP抗体の陰性化は、2重免疫拡散法およびELISAがともに陰性化したものを陰性化例と判定した。この条件を満たした症例が17例抽出された。対照：陰性化例と発症時年齢と経過観察年数を一致させ、かつ抗U1RNP抗体が持続陽性症例を抽出した。

## C. 結果

まず、抗U1RNP抗体陰性化群（陰性化群）と抗U1RNP抗体持続陽性群（陽性群）との背景因子を示す（表1）。経過中、抗体の陰性化がみられた17例の最終診断は、SLE 8例、MCTD4例、SSc2、UCTD 2、APS 1例であった。陽性群では、MCTD 9例、SLE 2、SSc 2例、UCTD3例、その他1例であった。一方、初診時年齢の陰性化群で $38.7 \pm 14.4$ 歳、持続陽性群 $39.0 \pm 9.7$ 歳で、観察期間もそれぞれ $13.6 \pm 6.6$ 、 $11.4 \pm 4.5$ 年と両群で差はなかった。

初発症状の比較した。陽性群では、レイノー現象が70%と多く、陰性化群では47%と少なく、皮疹29%、発熱12%、リンパ節腫大6%が多かった。次に、経過と症状の推移を比較検討した。陽性群では、レイノー現象88%から経過中に100%に増加した。また、肺線維症も、初診時には17%から35%に増加が見られた。一方、レイノー現象は陰性化群では、47%から29%に減少がみられたが、抗U1RNP抗体の陰性化にも関わらず、レイノー現象の

消失がみられなかった4例はいずれも、抗centromere抗体の陽性化がみられていた。抗centromere抗体は高率にレイノー現象を伴うことから、レイノー現象の持続は本抗体の出現による現象の可能性も考えられた。一方、SLEに関連した関節炎59%、リンパ節腫大71%などの症状は高率に見られたが、一過性で、最終観察時には消失する症例が多かった。また、強皮症様の症状は皮膚硬化6~17%、肺線維症18~12%と低頻度に推移した（表1）。

検査成績でも陰性化群では抗Sm抗体23.5~35.3%、抗DNA抗体47%~70%が一過性に高率に出現した。また、抗centromere抗体、lupus anti coagulant等の抗リン脂質抗体が経過中に6例と高率に認められた。また、抗centromere抗体も23%、ANCAも12%に出現し、陰性化群では多様な自己抗体が出現する特徴が認められた。陽性群では、Sm抗体29%、抗DNA抗体29%と低く、その他の自己抗体の出現もいずれも6%と低率であった（表2）。

抗U1RNP抗体価(ELISA)を両群で比較すると初診時の

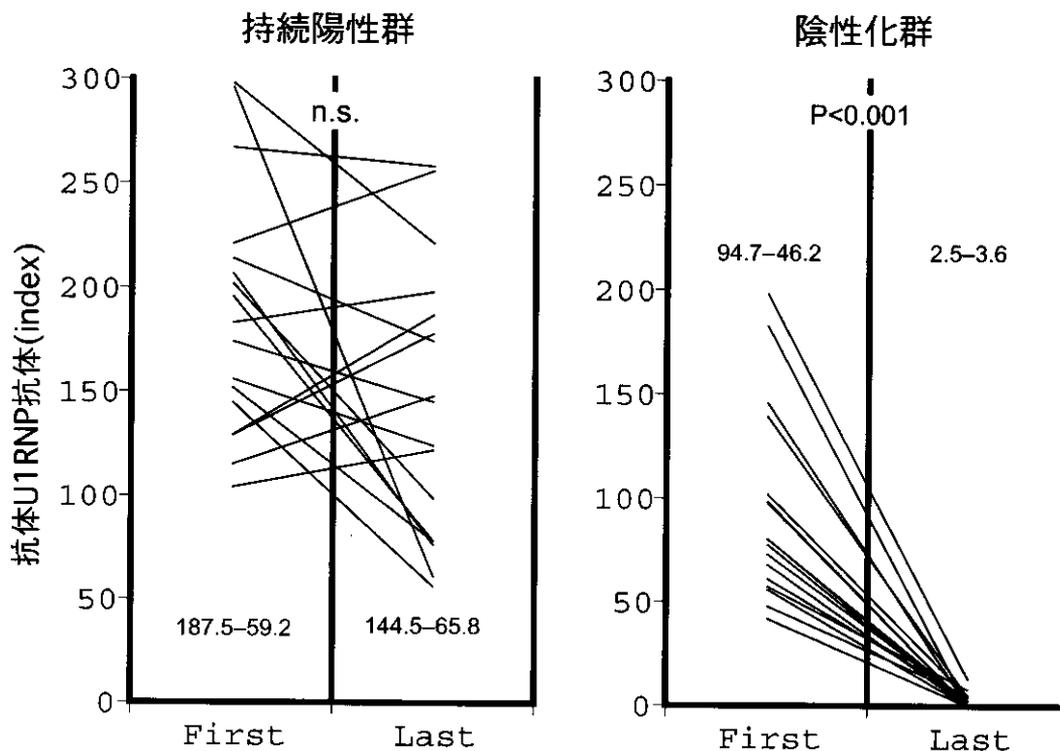
表1 抗U1RNP抗体陰性化群における症状及び検査成績の推移

症状・検査成績	初診時		最終経過観察時		全経過	
	No	%	No	%	No	%
レイノー現象	8 / 17	47.1	5 / 17	29.4	9 / 17	52.9
指ないし手の腫脹	4 / 17	23.5	0 / 17	0.0	5 / 17	29.4
近位部の皮膚硬化	1 / 17	5.9	3 / 17	17.6	3 / 17	17.6
多発関節炎	8 / 17	47.1	4 / 17	23.5	10 / 17	58.8
リンパ節腫大	9 / 17	52.9	6 / 17	35.3	12 / 17	70.6
肺線維症	3 / 17	17.6	2 / 17	11.8	3 / 17	17.6
筋力低下	1 / 17	5.9	0 / 17	0.0	1 / 17	5.9
肺高血圧症	1 / 17	5.9	2 / 17	11.8	3 / 17	17.6
Sjögren 症候群	1 / 14	7.1	1 / 13	7.7	1 / 17	5.9
白血球減少	8 / 17	47.1	6 / 17	35.3	12 / 17	70.6
血小板減少	4 / 17	23.5	2 / 17	11.8	4 / 17	23.5
筋原性酵素上昇	6 / 17	35.3	3 / 17	17.6	10 / 17	58.8
抗DNA抗体	8 / 17	47.1	11 / 17	64.7	12 / 17	70.6
抗Sm抗体	4 / 17	23.5	2 / 17	11.8	6 / 17	35.3
抗SSA抗体	5 / 17	29.4	8 / 17	47.1	11 / 17	64.7
抗SSB抗体	0 / 17	0.0	1 / 17	5.9	1 / 17	5.9
抗Jo1抗体	0 / 17	0.0	0 / 17	0.0	0 / 17	0.0
抗Scl70抗体	0 / 17	0.0	0 / 17	0.0	0 / 17	0.0
抗cardiolipin抗体	0 / 17	0.0	2 / 17	11.8	4 / 17	23.5
Lupus anticoagulant	2 / 17	11.8	4 / 17	23.5	4 / 17	23.5
抗リン脂質抗体	2 / 17	11.8	4 / 17	23.5	6 / 17	35.3
抗centromere抗体	0 / 17	0.0	4 / 17	23.5	4 / 17	23.5
ANCA	1 / 17	5.9	2 / 17	11.8	2 / 17	11.8

表2 抗U1RNP抗体持続陽性群と陰性化群との比較

症状・検査成績	持続陽性群		陰性化群		p-value
	NO	%	No	%	
レイノー現象	17	100.0	9	52.9	0.0013
指ないし手の腫脹	7	41.2	5	29.4	
多発関節炎	10	58.8	10	58.8	
リンパ節腫	9	52.9	12	70.6	
近位部の皮膚硬化	4	23.5	3	17.6	
肺線維症	7	41.2	3	17.6	
筋力低下	1	5.9	1	5.9	
肺高血圧症	4	23.5	3	17.6	
Sjögren症候群	6	35.3	1	5.9	0.089
白血球減少	13	76.5	12	70.6	
血小板減少	3	17.6	4	23.5	
筋原性酵素上昇	5	29.4	10	58.8	
抗DNA抗体陽性	5	29.4	12	70.6	0.039
LE細胞	5	29.4	7	41.2	0.089
抗Sm抗体陽性	5	29.4	6	35.3	
抗SSA抗体陽性	7	41.2	11	64.7	
抗SSB抗体陽性	0	0.0	1	5.9	
抗cardiolipin抗体陽性	0	0.0	4	23.5	
抗centromere抗体陽性	1	5.9	4	23.5	
ANCA	1	5.9	2	11.8	

図1 抗U1RNP抗体価の推移



抗体価も、陰性化群では94.7単位と、持続陽性群の187単位に比べ有意に低値であった。最終診断時と比較しても、陰性化群は2.5単位とさらに有意の低下がみられたが、持続陽性群では抗体価の有意の変動はみられなかった。この比較から、陰性化群は、陽性群に比べ当初から抗体価が低値であり、これが病態を規定している可能性も考えられる。また、抗体の多様性も陰性化群の方が高いため、陰性化群は本来、自己抗体に関する遺伝的背景が異なる可能性も考えられる。持続陽性群では、抗U1RNP抗体価も高値を持続し、レイノー現象の消失もみられなかった。

#### D. 考案

本研究では、抗U1RNP抗体陰性化に伴い本抗体に特有の症状が存在するかを検討した。陰性化群ではレイノー現象が抗体価の減少とともに消失するが、持続陽性群ではレイノー現象の消失はほとんどみられなかった。また、診断も陰性化群ではSLE等の他の膠原病を呈する頻度が高かったが、持続陽性群はMCTD、UCTDにとどまる症例が多かった。すなわち、抗U1RNP抗体は、レイノー現象をはじめとする一部の臨床症状と密接に関連していること、抗体の消失とともに関連した症状も消失することから、本抗体が単なる疾患標識抗体にとどまらず、病因的な自己抗体であることを示唆するものと考えられた。

本抗体のみが出現している症例は希であり、多くは同時に抗SSA抗体や低力価の抗DNA抗体等を同時に有するため、MCTDに関連した症状をすべて抗U1RNP抗体で説明できるわけではない。本研究からも、経過中多彩な自己抗体の出現がみられ、それらの抗体に関連すると考えられる症状の出現もみられたことから、今後は、抗体の詳細な検討とともに、遺伝的な背景も異なる可能性も考えられ、比較することが重要と考えられる。

#### 文 献

1. Smolen JS, and Steiner G. Mixed connective tissue disease: to be or not to be? *Arthritis Rheum*, 1998 ; 41:768-77.
2. LeRoy EC, Maricq HR, Kahaleh MB. Undifferentiated connective tissue syndromes. *Arthritis Rheum*, 1980 ; 23:341-3.