

実験的肺線維症モデルにおける、Th1/Th2型免疫応答の意義に関する研究

分担研究者： 土肥 眞 東京大学アレルギー・リウマチ内科助手

研究要旨

肺線維症の病態形成におけるTh1/Th2型免疫応答の意義を検討する目的で、マウスブレオマイシン実験肺線維症の系にTh1型サイトカインを発現するベクターを投与し、その効果を解析した。Th1型サイトカイン IL-12は、肺の炎症を増強させ、線維化を促進させる方向に作用した。ヒトの間質性肺炎・肺線維症においても、Th1型免疫応答は、線維化を進展増悪させる可能性が示唆され、今後検討すべき問題であると考えられた。

A. 研究目的

全身性の自己免疫疾患である膠原病には、間質性肺炎・肺線維症が高い頻度で発症し、時として生命予後を決定する因子となる。患者の肺内ではリンパ球を中心とする炎症性細胞がしばしば増加しており、病態に何らかの影響を及ぼしていることが推測される。一方近年、CD4陽性 Tリンパ球には、Th1型とTh2型の二種類のフェノタイプが存在し、それぞれが異なるサイトカインを産生して、アレルギーや自己免疫疾患の病態発症に深く関与している事が知られてきている。膠原病に合併する間質性肺炎・肺線維症においても、これらのT細胞のフェノタイプがそれぞれ病態に関与している可能性が考えられるが、現時点ではその詳細は不明である。本研究は、マウスのブレオマイシン（Bleomycin: 以下Bleo）惹起性肺線維症の実験系を用い、これに Th1型サイトカインを産生するプラスミドベクターを投与する事によって、生体内に Th1優位の環境を誘導し、それによる肺線維化形成に及ぼす影響を検討する事を目的とする。

B. 研究方法

BALB/cマウス（雄、8週齢）を用いた。ペンタバルビタールを用いて腹腔内麻酔後、気管切開

を施行し、頸部気管より、Bleo溶液（0.15unit/50 μ l 生理食塩水：生食）を投与した。コントロールとして、同量（50 μ l）の生理食塩水を投与した。さらに、大腿部筋肉に、pCACGベクター（IFN- γ , IL-12cDNAをそれぞれ含む）を100 μ gずつ、電気パルス刺激をかけて導入した。導入条件は、予備実験で求めた至適条件（100volt, 50 msec x 4 pulses）によった。陽性コントロールとして、1)プラスミドを含まない生理食塩水、2)サイトカインcDNAを含まないコントロールベクター、3)Bleo投与のみの無処置群、の3群を設定した。さらに、4) 生食を気管内投与した後にコントロールベクターを筋肉内に投与した群を陰性コントロール群とした。投与14日目(d14)に、体重を測定した後に麻酔し、1)採血、2)気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid: BALF)、3)肺標本を採取した。血清は今後の解析のために凍結保存した。BALFは、分画算定のためのサイトスピン標本を作成するとともに、ヘモサイトメーターを用いて細胞数を計測した。左肺は線維化の指標であるhydroxyproline (Hyx. P)の測定に用いた。右肺はホルマリンで固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

C. 研究結果

1) 体重変化

d14における体重 (各群平均値)は、生食群24.8gに対して Bleo群ではいずれも低下傾向を示し、特にIL-12投与群で21.1gと最も低下していた。

2) BALF細胞所見

生食群(1.4×10^5)と比べ、Bleo群ではいずれも総細胞数が増加しており、特にIL-12投与群で最大の増加傾向を示した(42.1×10^5)。細胞分画では、Bleo群ではいずれも好中球とリンパ球が増加していた。好中球の増加は、IL-12群で最大(8.4×10^5)であった。リンパ球の増加の仕方には、Bleo投与各群で差は無かった。

3) 肺内Hyx.P量

生食群($0.94 \mu\text{g}/\text{mg lung tissue}$)と比べ、Bleo群ではいずれもHyx.P量が増加していた。特に、IL-12投与群で増加は最大であった($1.51 \mu\text{g}/\text{mg lung tissue}$)。

D. 考察

従来、リーシュマニアに対する免疫応答によって、BALB/cはTh2優位、C57Bl6はTh1優位の系とされている。本検討の結果、BALB/cマウスを、IL-12産生ベクターを用いて Th1優位の環境に置くと、線維化の程度は増強された。従って、Th1優位の環境は、Bleoによる肺の線維化を増強させる方向に作用することが明らかとなった。一方、本検討の結果は、従来Bleoに対してlow responderとされ

ていたBALB/cマウスでも、投与量をhigh responderとされる C57Bl6マウスの場合に投与する量 (通常0.1unit) の1.5倍に増やすことで、IL-12産生プラスミドを投与しない系でも同様の肺の線維化が惹起された。この結果はBleoに対する感受性は、リーシュマニアに対する応答を基準に想定されているTh1/Th2反応の様式のみでは説明できないことをも示唆している。一方、同様にTh1型サイトカインに分類されるIFN- γ を投与しても、線維化は抑制されなかった。この理由としては、IFN- γ の持つ、急性期の炎症性サイトカインとしての作用とそれ以降の抗線維化作用とが相殺された結果、陽性コントロール群と比べて差が生じなかった可能性が考えられた。

E. 結論

Th1型の免疫応答は、実験的肺線維症において、線維化を進展増悪させる可能性が示唆された。

F. 研究発表

雑誌発表

To Y, Dohi M, Matsumoto K, Tanaka R, Sato A, Nakagome K, Nakamura T, Yamamoto K: A two-way interaction between hepatocyte growth factor and interleukin 6 in tissue invasion of lung cancer cell line. Am J Respir Cell Mol Biol 27 (2): 220-226, 2002

皮膚筋炎／多発性筋炎に合併する間質性肺炎の長期予後に関する研究： シクロホスファミド間歇静注療法の有用性の検討

分担研究者： 山田 秀裕

聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科 助教授

研究要旨

PM/DMの間質性肺炎に対するステロイド大量療法は寛解導入率、再燃率ともに不十分のため、種々の免疫抑制薬が試みられている。しかし、エビデンスに乏しく、前向き臨床試験によるEBMの確立が必要である。そこで教室で経験した129例のPM/DM患者の解析結果と過去の文献をもとに、前向き臨床試験をデザインした。amyopathicDMを含むDMおよびPM患者で症候性間質性肺炎合併例を対象とし、従来のステロイド大量療法とシクロホスファミド間歇静注療法とを比較する無作為割付対照試験(RCT)を設計した。割付の際に、PMかDM、酸素投与を必要とする重症例かそうでない例とで層別化した。主要エンドポイントは死亡、再燃、2年後の肺機能とした。日和見感染症対策も一定のプロトコールを定めた。参加各施設の倫理委員会の承認のもと、患者から文書同意を得て行うこととした。

A. 研究目的

PM/DMの間質性肺炎に対する治療法とその予後に関するEBMを確立するため、多施設共同長期前向き臨床試験を立ち上げる。さらに、シクロホスファミド間歇静注療法の有用性を従来のステロイド大量療法と比較するための無作為割付比較対照試験を行う。

B. 方法

前向き臨床試験をデザインする上で必要な臨床的根拠を、教室で経験した症例の解析結果を利用した。過去10年間にPM47例、DM66例、amyopathicDM16例の計129例を経験し、間質性肺炎はPM21例(45%)、DM39例(59%)、ADM9例(56%)に合併していた。このうち、高分解能CTによる解析可能な症例を対象とした。

C. 結果

間質性肺炎の臨床病型は急速進行性、亜急性、無症候性に分類された。無症候性を除く33例中

9例は初期治療に反応せず、2ヶ月以内に死亡した。急性期治療に反応しない予後不良群は、全例DMであり急性発症で入院時低酸素血症を呈し、高分解能CT所見が広範な症例が有意に多く、これらの因子は多重ロジスティック回帰分析においても予後予測因子として抽出された。初期治療反応群の中で、ステロイド単独投与群の70%は2年以内に間質性肺炎の再燃がみられたのに対し、シクロホスファミド併用群では治療を中断した1例のみであった。また、間質性肺炎の急性増悪とカリニ肺炎などの日和見感染症との鑑別にHRCT所見が有用であった。

以上の解析結果および文献的根拠をもとにして前向き臨床試験を以下のようにデザインした。対象患者は、amyopathicDMを含むDMおよびPM患者で症候性間質性肺炎合併例とする。悪性腫瘍、感染症合併例は除外する。DM患者で治療開始時に酸素投与を必要とする重症例と、そうでない非重症例とに層別化して、二つの治療群に無作為割り付けする。対照群はステロイド大量療法（重症

例はパルス療法) 単独治療群とし、試験群はシクロホスファミド間歇静注療法を併用する。両群ともステロイドは一定の割合で漸減する。シクロホスファミドは0.5g/m²を4週毎に6ヶ月間投与し、以後3ヶ月毎に計2年間継続投与する。治療開始時点より呼吸状態が悪化した場合、または間質性肺炎が再燃した場合は治療無効例と判定して他の治療法(シクロスポリン、アザチオプリン、FK506など任意)に変更する。主要エンドポイントは死亡、再燃、2年後の肺機能(%VC>70%)とする。日和見感染症対策として一定のプロトコールを定める。2群間の比較解析はintention-to-treat解析とし、40症例を目標とする。臨床試験は参加各施設の倫理委員会の承認のもと、患者から文書同意を得て行う。

D. 考察

世界的にPM/DMの間質性肺炎に対する確立した治療法はなく、前向き臨床試験は皆無である。多施設共同で前向き臨床試験を行わない限り、質の高いevidenceは得られない。

本研究は、発症早期から強力な免疫抑制薬を用いることで、初回寛解率のみならず再発予防と長期的呼吸機能維持に対する効果を明らかにしようとする点で、初めての試みである。さらに、初期治療前の臨床情報の中から治療抵抗例、再燃例などの予後を予測する因子を見いだすことが出来る。

PM/DMの間質性肺炎のような稀少疾患を対象とする前向き臨床試験を我が国で遂行し、質の高いエビデンスを確立するためには、以下の作業が必要と考えられる。1) 現時点で多くの専門医が合意できる標準的治療法と診療プロトコールの作成、2) 標準的治療法を対照として試験的治療法のデザイン、3) 患者outcomeを中心とした評価方法とエンドポイントの設定、4) 全国的な診療

ネットワークの形成と全患者の登録システムの確立。5) 予算の確保。今年度の研究は上記の1)~3)について試案を作成し研究班の合意を得る事を目指した。今後は、さらに多くの専門施設に参加を要請し、PM/DMの間質性肺炎の診療ネットワークの構築を目指す。かかる前向き臨床試験のもう一つの意義は、治療開始前に保存された血清などの患者試料を用いて、治療反応性や予後などを規定する因子の解析を可能にする。

E. 結論

PM/DMの間質性肺炎に対するEBMを確立するため、シクロホスファミド間歇静注療法の有用性を従来のステロイド大量療法と比較するための無作為割付比較対照試験のプロトコールを作成した。

F. 健康危険情報：特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Johkoh T, Muller NL, Colby TV, Ichikado K, Taniguchi H, Kondoh Y, Fujimoto K, Kinoshita M, Arakawa H, Yamada H, Suga M, Ando M, Koyama M, Nakamura H. Nonspecific Interstitial Pneumonia: Correlation between Thin-Section CT Findings and Pathologic Subgroups in 55 Patients. *Radiology* 225:199-204, 2002.

2. 学会発表

Yamasaki M, H. Yamada, Y. Yamasaki, et al. Lung histopathological analysis is useful to predict the outcome of interstitial pneumonia in patients with polymyositis/ dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 46:S488.

H. 知的財産権の出願・登録：なし

膠原病性肺高血圧症の頻度と病態の解析

分担研究者： 吉田 俊治 藤田保健衛生大学リウマチ感染症内科・教授

研究要旨

PHには前毛細血管性、後毛細血管性、さらに手術の適応となりうるマクロ血栓性のもがあり、治療や病態のうえからこれらの鑑別は重要である。そこで膠原病におけるPHの正確な合併頻度とその病態を知るために、班内で調査を行うことにした。すなわち膠原病患者5人に1人の割合で「PH診断の手引き」にある所見の有無を検討する。ここでPHの疑われるものには、心臓超音波検査を行う。これらの検索でPHを「確定」あるいは「疑い」の場合には、さらに肺機能検査、肺血流シンチを行う。上記の調査票を作成し、臨床系分担研究者の施設で行えるよう準備中である。

A. 研究目的

肺高血圧症(PH)は、膠原病で高率に合併し予後が悪化させる因子とされている。膠原病性PHの頻度については、単一施設で全膠原病患者のPH合併度をretrospectiveに調べたり、あるいは全ての膠原病患者を調査した報告は散見されるが、いずれも少数例の検討である。厚生労働省の混合性結合組織病(MCTD)研究班の全国調査¹⁾は多数例ではあるが、全ての膠原病患者にはPHに関する検査を行っておらず正確性に欠ける。

また病態や治療反応性の異なると考えられる前毛細血管性、後毛細血管性の区別や外科的治療の可能なマクロ血栓性PHの頻度も不明である。そこで本研究班内の施設でこれらについてprospectiveに調査することを目的とした。

B. 研究方法

各分担研究者の施設の膠原病患者数人に一人の割合でPHに関する検討を行う。各施設の状況に応じて、必要ならばそれぞれの倫理委員会への申請を行う。患者には研究の意義とそのメリット、デメリットを十分説明する。

C. 研究結果

薬剤の長期投与が可能なことから、1ヶ月より長

期の間隔で通院される患者が少なくないと考えられるため、調査期間を2ヶ月に設定した。厚生省MCTD研究班策定の「MCTD肺高血圧症診断の手引き」²⁾に基づいて、患者調査を行うこととした。各分担研究者の施設の膠原病患者の約5人に一人の割合で

①「労作時の息切れ」 ②「胸骨左縁収縮期性拍動」 ③「第Ⅱ肺動脈音の亢進」

について調べると共に、

④胸部X線写真 ⑤心電図検査

を行う。

①+②+③あるいは

④で「肺動脈本幹部の拡大あるいは左第2弓突出」あるいは

⑤で「右室肥大あるいは右室負荷」

のものに、心臓超音波検査を行う。

これらの検索でPHを「確定」あるいは「疑い」の場合には、さらに肺機能検査(%DLCOとTLCを含む)、肺血流シンチを行う。現在、上記の方針で調査票を作成し、各分担研究者に倫理委員会など学内の状況について問い合わせるなどして調査に向けて準備中である。

D. 考察

厚生労働省のMCTD研究班では、主治医判断による

PHの頻度を班内³⁾および全国調査¹⁾で調べ、MCTDを筆頭に膠原病全般でPHの合併率が高いことが報告されてきた。さらに治療内容を調べ、ステロイド薬や免疫抑制薬が少なからず使用され、ステロイド薬大量使用群にPH改善例が少なからずいることも報告されている。これらの報告は世界的にも類を見ない多数例の検討ではあるが、PHの診断は主治医判断であり、必ずしも対象患者全例にPHに関する検討がなされていないため、正確な頻度とは言い難い。今回進行中の検討は、より正確な頻度が判明すると期待される。さらに2次調査が必要なときにも、研究班内の患者のため、アクセスが容易である。これらの解析により膠原病性PHの実態と治療成績の向上が期待される。

E. 結論

研究班内のprospectiveな調査により、膠原病性PHの正確な実態と治療成績の向上が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 浅野純一郎、加藤賢一、吉田俊治、他：エポプロステノールによる膠原病合併肺高血圧症の治療成績について、Therapeutic Research、

23:2159-2160. 2002.

2. 学会発表

(1) 小松八千代、大島久二、吉田俊治、他：膠原病合併肺高血圧症の発症機序に関する基礎的検討。第46回日本リウマチ学会総会、神戸、2002

(2) 浅野純一郎、加藤賢一、吉田俊治、他：エポプロステノールによる膠原病合併肺高血圧症(PH)3例の治療成績。第46回日本リウマチ学会総会、神戸、2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

文献

1. 東条毅、秋谷久美子、鳥飼勝隆、ほか：膠原病四疾患における肺高血圧症の頻度に関する全国疫学調査。厚生省特定疾患皮膚・結合組織疾患調査研究班混合性結合組織病分科会平成10年度研究報告書、p. 3-6, 1999
2. 西間木友衛、青塚新一、国枝武義、ほか：混合性結合組織病の肺高血圧症診断の手引き。リウマチ、31:159-166, 1991.
3. 鳥飼勝隆、深谷修作、国枝武義、ほか：混合性結合組織病患者における肺高血圧症の合併率調査。厚生省特定疾患皮膚・結合組織疾患調査研究班混合性結合組織病分科会平成10年度研究報告書、p. 24-27, 1999.

流血中PCNA蛋白複合体と腎病変

分担研究者： 高崎芳成 順天堂大学医学部膠原病内科・助教授

研究協力者： 山田浩史、縄田益之、池田圭吾、松下雅和、松平 蘭、金田和彦、
浅野正直、橋本博史（順天堂大学医学部膠原病内科）

研究要旨

全身性エリテマトーデス(SLE)自験患者を対象とし、抗PCNAモノクロナール抗体を用いた蛍光抗体間接法にてPCNA陽性活性化単核球を検出し、血清中のPCNA蛋白複合体を二つの異なるモノクロナール抗体を用いたsandwich ELISAで検出した。また、PCNA蛋白複合体の各成分への反応性を免疫ブロット法(IB)で検出した。

流血中のPCNA蛋白複合体は115例中75例、65%で検出され(6 から 350 ng/ml)、そのほぼ全例でPCNA陽性活性化単核球が検出された。一方、IBにてPCNA蛋白複合体の構成蛋白への反応性を検討すると、38例(33.0%)がすくなくとも一つ以上の蛋白と反応を示していた。PCNA陽性活性化単核球が検出され、PCNA蛋白複合体に対する抗体を認める症例は高率に腎症を有し、血中抗原の上昇に引き続き抗体価の上昇が認められた。また、抗原の上昇する時期には免疫複合体が同時に増加することが確認され、それに引き続き腎症の増悪が認められた。さらに、ステロイド薬のパルス療法後には、PCNA陽性活性化単核球の減少と反比例して流血中の抗原が上昇することが確認された。

以上の結果より、流血中の自己抗原はSLE患者活性化単核球より放出され、抗体の産生を誘導するとともに免疫複合体を形成することにより腎病変の増悪に関与している可能性が示唆された。また、ステロイド薬の治療は抗原の放出を促すことから、パルス療法などの後に、抗原を除去することがより有効な腎症の治療につながることを示唆された。

A. 研究目的

最近、我々は当研究室で樹立した増殖性細胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen; PCNA)に対するモノクロナール抗体が、PCNAが細胞内機能に関連して結合する種々の蛋白との複合体(PCNA蛋白複合体; PCNA complex)と反応することを明らかにした¹⁾。さらに、これらの抗体を用いて患者血清中のPCNA complexを検出するシステムを開発した²⁾。今回はこの方法を用い、全身性エリテマトーデス(SLE)患者の流血中PCNA complexに対する免疫応答と流血中抗原量と腎症の関連について検討し、流血中自己抗原の腎症における病因的意義について考察した。

B. 対象および研究方法

1) 対象

アメリカリウマチ学会の診断基準を満たす自験SLE患者115例を対象とした。

2) 方法

抗PCNAモノクロナール抗体(T0B7)を用いた蛍光抗体間接法(IF)にてPCNA陽性活性化単核球を検出した。流血中のPCN complexは二つの異なるモノクロナール抗体(T0B7, T030)を用いたsandwich enzyme-linked immunosorbent assay (sELISA)で検出した。

PCNA complexの各成分へのSLE患者血清の反応性は、T0B7を用いたアフィニティーカラムにて精製したPCNA complexを抗原源とした免疫ブロット

法 (IB) にて解析した。

C. 研究結果

1) PCNA complexの精製とその構成蛋白

図1にSLE患者血清AKおよびTOB7を用いて精製した抗原をSDS-PAGEにて分析した結果を示す。血清AKはPCNAの他の蛋白への結合部位をエピトープとして認識し、単量体および3量体とのみ反応することから34 KdのPCNAのみが精製されている (lane A)。これに対してTOB7は血清AKと異なるエピトープを認識し、単量体および3量体に加えて、他の蛋白と結合したPCNA complexと反応し、多数の蛋白が34 KdのPCNAに加えて検出されている (lane B)。

2) 流血中PCNAと末梢血PCNA陽性活性化細胞

sELISAにて流血中のPCNA蛋白複合体は115例中75例、65%にて検出され (6 から 350 ng/ml)、そのほぼ全例でPCNA陽性活性化単核球が検出された (データは示していない)。

3) 精製PCNA complexに対するSLE患者血清の反応

流血中にPCNA complexが検出されたことから、その構成蛋白に対する免疫応答が起こっていることが示唆された。そこで、115例のSLE患者血清のPCNA complexに対する反応性をIBにて解析した。その結果、SLEでは他疾患に比較して高率に少なくとも一つ以上の蛋白と反応を示し (33.0%)、さらに大部分の血清は複数の蛋白に反応する特徴が認められた (表1および図2)。

4) 流血中抗原と免疫応答の展開

さらに、流血中PCNA complexの濃度と複合体に対する血清の反応をSLE患者OKで経時的に観察すると、抗原濃度の上昇に引き続き、各構成蛋白に対する免疫応答が広がっていく様相が観察された (図3)。

5) 流血中抗原と免疫複合体

症例YKにてPCNA complexの濃度と抗PCNA抗体価および免疫複合体の関係を検討すると、IBによる解析と同様に抗原濃度の上昇に引き続いてPCNA complexの成分である抗PCNA抗体価の上昇が認められる一方、抗原の上昇する時期には同時に免疫複合体が上昇することが確認され、それに引き続

き腎症の増悪が認められていた (図4)。

6) ステロイドパルス療法と流血中抗原

上述の症例でステロイド薬増量後に抗原濃度が上昇する傾向が認められたため、腎症の治療の目的でパルス療法を施行した4例のSLE患者にて治療前後のPCNA陽性細胞と流血中PCNA complex濃度の関係を検討した。その結果、PCNA陽性活性化単核球の減少と反比例して流血中の抗原が上昇することが確認された (図5, 実線が抗原濃度、破線が陽性細胞)。

7) 流血中PCNA complexの解析

TOB7を用いたアフィニティーカラムにて、血漿交換で得たSLE患者OKの500mlの血漿からPCNA complexを精製し、その構成成分の解析を試みた。その結果、これまでウサギ胸腺PBS抽出液より精製した抗原で確認されていたPCNA complex 構成蛋白の内^{1,3)}、Ki (PA28 γ) (lane 2), Top-I (lane 3), PA700 ATPase subunit (lane 5), PCNA (lane 7), 20S proteasome β subunit (lane 9), replication protein A (lane 11) などが検出された。 (lane 1; anti-human IgG, 4; anti-rabbit IgG, 6; anti-mouse IgG, 8; 20S proteasome α subunit, 12; anti-DNA helicase II, 13; anti-cyclin D, 14; anti-p21, 15; anti-CDK4, 16; anti-CDK 5)

D. 考察

SLEでは患者末梢血に疾患活動性に関連しながらリンパ球を中心とする活性化細胞が出現することが知られている³⁾。これらの細胞はアポトーシスおよびネクローシスにより、流血中に細胞内抗原を放出し、“antigen driven”の形で自己抗体の産生に寄与している可能性が示唆されている³⁾。実際、我々の検討では血清中に放出された抗原に引き続き抗体産生が誘導されることが示され、各構成蛋白に免疫応答が広がっていくことが明らかにされた。また、それと同時に免疫複合体の上昇も認められ、III型のアレルギーによるループス腎炎の進展にこれらの抗原が関与している可能性が強く示唆された。さらに、ステロイ

ド薬による治療は細胞内からの抗原放出を促している可能性が示され、それに伴う免疫複合体の上昇を考慮すると、その減量には十分注意を要する実態が明らかにされた。この事実は、大量ステロイド薬の投与後に抗原および免疫複合体除去を目的とする血漿交換などの併用がより効果的な治療につながる可能性を示唆する所見と思われた。また、今回の検討で流血中にPCNA complexが実際に流れていることを示唆する結果を得たが、これらの抗原と抗体、さらに免疫複合体の実体を明らかにすることは腎症の病態の解明に重要な情報を提供すると考えられる。

function in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 46: 2946-56, 2002

E. 結論

以上の結果より、流血中の自己抗原はSLE患者活性化単核球より放出され、抗体の産生を誘導するとともに免疫複合体を形成することにより腎病変の増悪に関与している可能性が示唆された。また、ステロイド薬の治療は抗原の放出を促すことから、パルス療法などの後に、抗原を除去する血漿交換療法などを併用することがより治療効果を高める可能性が示唆された。

F. 文献

- 1) Takasaki Y, Kogure T, Takeuchi K, et al: Reactivity of anti-proliferating cell nuclear antigen(PCNA) murine monoclonal antibodies to the PCNA multi-protein complexes involved in cell proliferation. *J Immunol* 166: 4780-4787, 2001
- 2) Takasaki Y, Ohgaki M, Kodama A, et al: A sandwich type enzyme-linked immunosorbent assay for pro-liferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) using monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 132: 227-237, 1990
- 3) Kogure T, Takasaki Y, Takeuchi K, et al: Autoimmune responses to proliferating cell nuclear antigen multiprotein complexes involved in cell proliferation are strongly associated with their structure and biologic

图 1

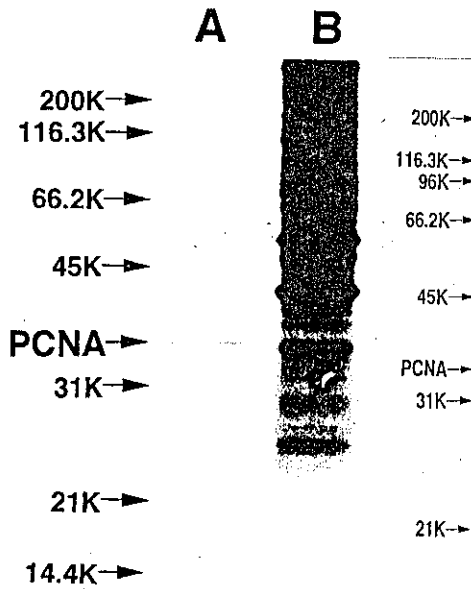


图 2

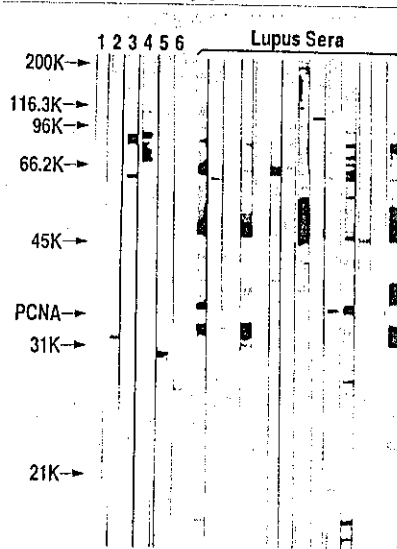


表 1

Diseases	Number of Patients	Frequency
SLE	115	33.1%
SjS	20	15
PM/DM	20	15
SSc	20	20
RA	22	9
Normal	15	0

图 4

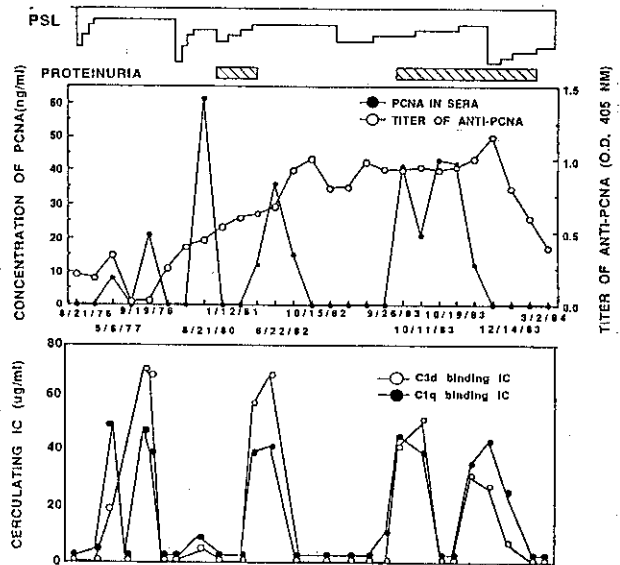


图 3

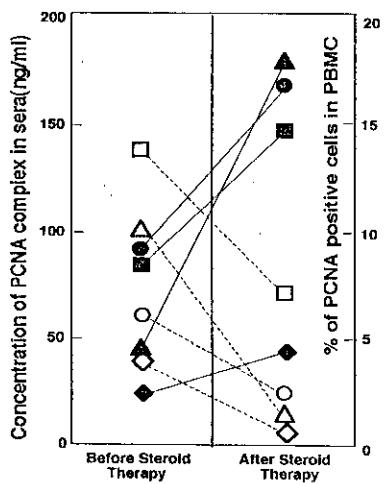
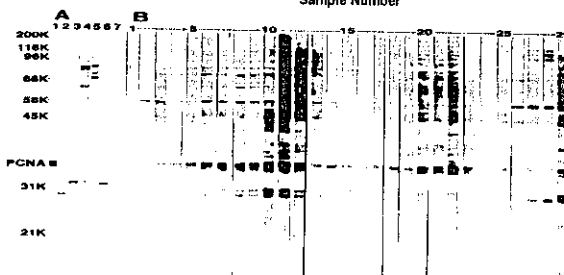
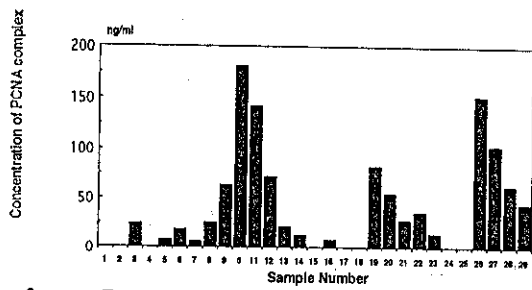


图 5

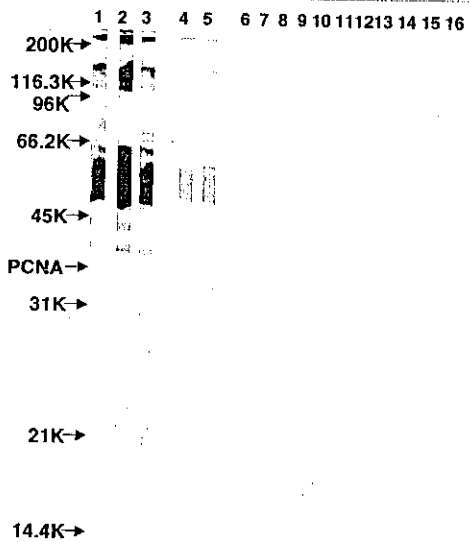


图 6

全身性強皮症の重症腸管病変の病状と治療法に関する臨床的解析

分担研究者： 遠藤 平仁 北里大学医学部内科・講師

研究要旨

全身性強皮症は稀に重篤な腸管病変を合併し経口摂取が困難となり在宅中心静脈栄養法（HPN）の導入を必要とする症例が存在する。HPN導入を必要とした9症例の臨床的解析を行った。びまん性皮膚硬化型が8症例と多く内臓合併症として肺線維症、心筋障害、筋炎が多くそのため副腎皮質ステロイド薬の投与例が多かった。HPNは平均35ヶ月施行した。合併症としてカテ感染やカテ部静脈血栓症などが認められた。HPN導入後も消化管機能改善薬や腸管蠕動促進薬を併用したがHPNから離脱できた例はない。今後病態の解析と新たな治療薬の開発が望まれる。

A. 研究目的

全身性強皮症（SSc）は高頻度に消化管病変を合併する。特に腸管病変は腸管壁平滑筋の萎縮と線維化により腸蠕動低下とそれによる腸内容物の停滞と腸内細菌の異常増殖と吸収不良症候群を起し患者のQOLは著しく低下する。偽性腸閉塞などの重篤な腸管病変を合併し患者QOL改善のため在宅中心静脈栄養法（HPN）の導入を必要とした強皮症患者の臨床的特徴と管理およびその問題点について検討した。

B. 方法：1983年から2002年の20年間に北里大学病院膠原病感染内科に入院した偽性腸閉塞を合併した17名の全身性強皮症患者臨床的特徴の解析を行った。また病理解剖を施行し得た全身性強皮症2例の腸管の病理組織変化について検討した。

C. 結果

偽性腸閉塞を合併した全身性強皮症患者17名中9症例は平均64.8±43ヶ月（5.4年±3.5年）保存療法を行うも最終的に効果なく完全皮下埋め込み式カテーテル（ポート）を装着した。感染症にて死亡した1症例を除いて8例は在宅中心静脈栄養法を導入した。重症腸管病変を合併した9症例は腸病変合併時年齢46±14歳。偽性腸閉塞、胃

食道逆流症を全例合併し3例は腸管嚢腫様気腫を合併し気腹を合併した。臨床的特徴はびまん性皮膚硬化型SSc8例また手指潰瘍が33%で合併した。限局型は1例であった。SSc罹病期間は9.7±3.7歳であった。臓器合併症は間質性肺炎56%、心筋障害（心不全、不整脈）が78%合併しまた骨格筋筋炎が44%に合併し頻度が高かった。自己抗体は抗Topo-1抗体2例、抗U1-RNP抗体2例、抗セントロメア抗体1例であった。保存療法は消化管機能調整薬（Methocropamide4例,Cisapride9例,Octreotide4例,Erythromycin,PGF2 α 8例）は全例で使用しカナマイシンなどの抗菌薬は75%で使用された。偽性腸閉塞合併時全例禁飲食、胃カテーテルあるいはイレウス管にて排液減圧療法を行った。また腸蠕動促進薬の併用その後低残渣食などの栄養療法も行った。ポート装着前1年で体重は44.9±8.1kgから36±3.5kg（Body Mass Index:BMI21±6から16±3.2）に低下し栄養状態の低下を認めた。HPN導入SSc8例中4例は死亡（心不全2例、敗血症1例、肺結核1例）HPN導入平均期間35ヶ月、4例は平均32ヶ月施行し現在も治療継続中である。HPN導入後体重平均36.7±3.5kgから42.7±3.5kg（BMI 16±3.2から19.7±4.2）に増加し日常の活動性も改善し患者QOLは良

好になった(図1)。HPN導入後の合併症はHPN施行35±18ヶ月(カテーテル使用総数8418回)カテーテル感染のべ16回(1.8%)、カテ刺入部静脈閉塞2回(0.2%)おこりポート再装着を必要とし心不全4回(0.4%)合併した。HPN導入を行ったSSc患者は入院中清潔操作、輸注ポンプの使用などの自己管理、併用する低残渣食事や摂取水分量などを担当看護師や栄養士よりうけ外来にて継続看護指導をうけている。またカテ維持のためのヘパリン生食は使い捨て注射器タイプのものを用いるようになった。清潔操作指導の効果もあり感染率は減少している。しかしHPNと共に消化管蠕動促進薬や抗菌薬の併用を行うもHPNより離脱できた例はなかった。保存療法のみで偽性腸閉塞より離脱し管理されHPNの導入のされていない8例は限局性皮膚硬化型4例(50%)と多く腸管症状出現までの罹病期間HPN例と比較して長く、筋炎や心筋合併症は認めず保存療法平均2週間で回復し食事療法のみで対応できている。

D. 考察

SSc患者は高率に消化管合併症を合併し、特に小腸病変は40%の例で合併し著明な蠕動低下し特に晩期の病変は食物刺激に対する蠕動もなく偽性腸閉塞の状態になり悪心嘔吐を繰り返し経口摂取が困難になる。初期の薬物療法効果のある時期はNeurogenic phaseといわれ晩期は消化管平滑筋の萎縮がおこりMyogenic phaseと呼ばれ保存療法の効果のない時期になる。また腸内容物の停滞により腸内細菌の過剰増殖それにひき続き吸収不良症候群が起こり患者の体重減少、栄養不良により患者QOLの低下と予後悪化の因子になる。多くの消化管機能改善薬、腸管蠕動促進薬が試みられ短期的有効性は確立している。しかし初期には偽性腸閉塞は禁飲食や薬剤治療に反応するが長期的には反応が乏しくなり最終的に保存療法で管理することが困難になる。偽性腸閉塞の再発を繰り返す重症例はQOL改善のため中心静脈栄養導入が必要となる。かつて我々は4例のHPN導入SSc短期経過について報告した。しかしSSc腸管

病変に対するHPNの適応基準、管理法に関する基準についての検討はなされていなかった。重症腸管病変合併のためHPN導入を要したSScは9例の臨床的特徴と管理について検討した。びまん性皮膚硬化型で手指潰瘍や心筋障害や筋炎の合併の多い症例が多く初発症状より5年以内に偽性腸閉塞を合併した重症例であった。欧米ではHPN導入例は限局性皮膚硬化型で消化管合併症の多い症例である。GrabowskiとGrantはHPN導入の基準として呼吸機能、心、循環機能が十分であることを挙げている。また死亡率や合併症の比率は40%以上になる。報告した9症例は肺線維症、心筋障害の合併が多くまた筋炎などに対して副腎皮質ステロイドの投与が50%の症例でなされていた。したがって管理上困難な例が多い特に心筋障害例が多くHPNは間欠的輸液法を用いており輸液速度等心機能を考慮し管理上注意する必要がある。また副腎ステロイド投与例が多く感染症が問題となる。しかし清潔操作の指導やヘパリン生食などが使い捨て製品となり近年はカテ感染が少なくなっている。またHPNが長期になった場合血栓形成のため中心静脈閉塞が2例認められた。共に他の静脈にカテーテルの再留置が必要となった。抗凝固薬の併用を行っているが出血等の副作用に注意の必要がある。HPN導入をおこなったSSc患者は年齢が若く今後も合併症の危険が高く新たな治療薬の開発によりHPNからの離脱を試みる必要がある。HPN導入報告例は全例腸管蠕動促進薬や抗菌薬の併用あるいは低残渣食や経腸栄養剤を併用しHPN中止を試みているが離脱し得た例はない。

E. 結論

重症腸管病変を合併したSScはびまん性皮膚硬化型SSc例が多く肺線維症、心筋障害、筋炎を合併し発症より5年以内に偽性腸閉塞を繰り返すようになり禁飲食や経鼻カテーテルによる減圧療法、腸管蠕動促進薬および抗菌薬を投与し保存療法を約5年行ったが効果が乏しく吸収不良症候群と著明な体重減少およびQOLの低下を引き起

こしHPNの導入をした。HPN導入後栄養状態の改善し体重の増加や日常生活活動性の改善がある反面、合併症（感染、静脈閉塞）も多く認められる。晩期の腸管平滑筋萎縮に進展することを防ぎ腸管蠕動栄養吸収不良を改善する治療法を検討する必要がありHPNから離脱させる方法を開発する必要があると考える。

文献

1. Sjogren, RW : Gastrointestinal motility disorders in scleroderma. Arthritis Rheum, 37, 1265-1282, 1991
2. Grabowski G, Grant JP : Nutritional support in patients with systemic sclerosis. J.Parentern. Enteral Nutr 13,147-151, 1989
3. Cheng S, Clements PJ, Berquist WE : Home central venous hyperalimentation in fifteenth with

severe scleroderma bowel disease. Arthritis Rheum 32,212-214, 1989

G. 研究発表

1. 論文発表

遠藤平仁、河野静、近藤啓文：消化管にみられる線維症と治療. 現代医療、 35、117-121、2003年

2. 学界発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

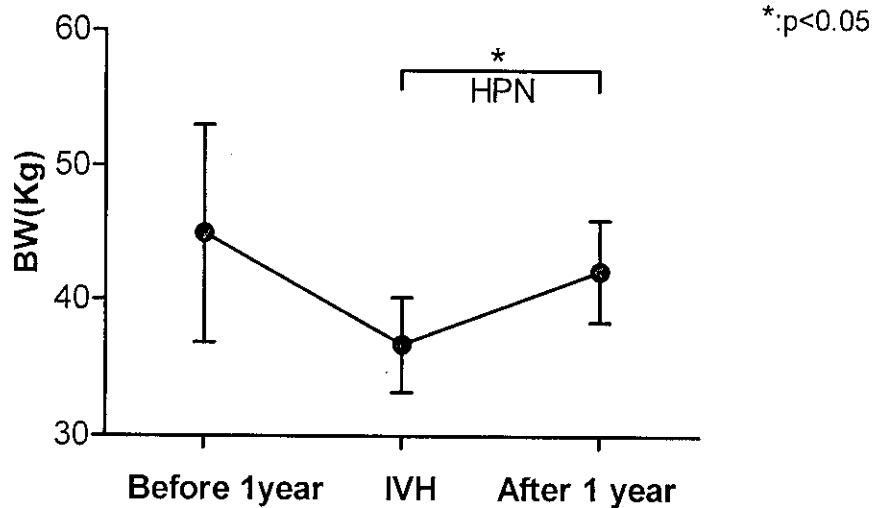
なし

3. その他

なし

図 1

Effect of HPN in patients with SSc



AA-アミロイドーシスの遺伝的要因、病態、治療に関する研究

分担研究者： 寺井 千尋 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター・助教授
研究協力者： 小関 由美, 梶山 浩, 金子 裕隆
(東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター)

研究要旨

血清アミロイドAをコードする*SAA1* geneの*SAA1* γ 遺伝子とpromotor領域の-13T変異は日本人における続発性アミロイドーシス発症の危険因子であり、強い連鎖不平衡にある。本研究では、これらの多型がアミロイドーシス発症に関連する機序を検討した。*SAA1* promotorには4つのhaplotypeがあり、それらをルシフェラーゼベクターに組み込み培養肝細胞に移入して発現をみたところ、-13Tをもつhaplotypeで活性が亢進していた。一方、血中SAAレベルを測定すると*SAA1* β がもっとも高値で、*SAA1* γ は*SAA1* α とともに低値を示した。産生亢進のある*SAA1* γ が血中で低いのは代謝が他のSAAと異なることを示唆する。*SAA1* γ は産生と代謝の両面でアミロイド沈着を起こしやすいと考えられた。

A. 研究目的

続発性AAアミロイドーシスは関節リウマチ患者死因の上位を占める難治性の病態である。続発性アミロイドーシスでは急性炎症タンパクのひとつである血清アミロイドA (SAA) に由来するアミロイドAが組織に沈着するが、その発症メカニズムは不明である。*SAA1*タンパクをコードする*SAA1*遺伝子には*SAA1* α 、 β 、 γ の3つのalleleが存在するが、日本人では*SAA1* γ alleleが続発性AAアミロイドーシス発症の危険因子であり、*SAA1* γ alleleをもつアミロイドーシス患者のRA発症からアミロイドーシス発症までの期間が有意に短いことが判明している。*SAA1* α 、 β 、 γ 遺伝子の産物である*SAA1*タンパクは104個のアミノ酸からなり、互いに52番目と57番目のアミノ酸の変異をもつ。すなわち*SAA1* α では52V-57A、*SAA1* β では52A-57V、*SAA1* γ では52A-57Aである。このアミノ酸変異が*SAA1* α 、 β 、 γ タンパクの性状の違いを生み、*SAA1* γ 遺伝子をアミロイドーシス発症の危険因子としている可能性がある。我々はさらに*SAA1*遺伝子のプロモーター領域の検討に

より、-61、-13、-2位の3カ所に新たなSNPsを発見し、そのうち-13位のSNP T/Cのうち、-13Tが*SAA1* γ alleleより以上に強い危険因子(Odds比33.3)であることを報告した。このプロモーター領域にはTATA box (-31 to -26)、NF- κ B binding element (-97 to -88)、NF-IL6 binding element (-187 to -177)などの*cis*-acting regulatory elementsが存在することから、これらのpoint mutationが*SAA1*プロモーター活性に対して影響を与えている可能性も十分に考えられた。本研究では*SAA1* γ あるいは-13Tがどのようにアミロイドーシスの発症に関与するかを解明する目的で、*SAA1*タンパクの産生と代謝につき検討を試みた。

B. 研究方法

(1) *SAA1*遺伝子型別のSAA血中濃度の検討

*SAA*タンパクはCRPと同様にIL-1、IL-6、TNF- α などの炎症性サイトカイン刺激により肝で産生される。CRP遺伝子(タンパク)には多型はないので、一定の炎症性サイトカイン刺激に対しては

一定量のCRPが産生されると考えられる。そこでRA患者111例から得た247血清サンプルのSAA/CRP比を測定し、*SAA1*遺伝子型別に分けることで、一定の炎症刺激に対するSAAの血中濃度の比較を試みた。SAAタンパク濃度はラテックス凝集比濁法にて測定し、*SAA1*遺伝子型はPCR-SSCP法ないしPCR-RFLPにて決定した。

(2) プロモーター領域遺伝子多型による転写活性の検討

SAA1 プロモーター多型による転写活性の違いを検討するために、*SAA1*プロモーターの3ヶ所のSNPs (-61 C/G, -13 C/T, -2 G/A) を含む領域をPCR増幅し (*SAA1*プロモーターはSNPsの組み合わせにより4種類のハプロタイプ C-C-G、G-C-G、G-C-A、C-T-Gが存在する)、ルシフェラーゼ・レポーターベクター (pGL3-basic) に挿入後、培養肝細胞株であるHep G2細胞にトランスフェクションし、ルシフェラーゼアッセイを行った。

C. 研究結果

(1) *SAA1*遺伝子型別のSAA血中濃度の検討

111例のRA患者より炎症のみられた (CRP \geq 0.5mg/dl) 合計247サンプルにつき、SAA/CRP比を検討した。RA111例は*SAA1*遺伝子型に分けると、 $\alpha\alpha$ 8、 $\beta\beta$ 8、 $\gamma\gamma$ 17、 $\alpha\beta$ 22、 $\alpha\gamma$ 30、 $\beta\gamma$ 26例であった。247サンプルのSAAとCRPは正の相関 ($r=0.87$, $p\leq 0.0001$) を示し、各個人ごとにSAA/CRP比は一定となる傾向がみられた。

SAA/CRP比は、 $\beta\beta$ (9.7 ± 6.2)、 $\beta\gamma$ 、 $\alpha\beta$ の順で高く、 $\gamma\gamma$ (5.2 ± 3.4)、 $\alpha\alpha$ (5.4 ± 4.4) は低値を示した。 $\beta\beta$ の値は、 $\gamma\gamma$ 、 $\alpha\gamma$ に対し有意に高値であった。

(2) プロモーター領域遺伝多型による転写活性の検討

4種類の*SAA1*プロモーターハプロタイプはIL-1 β とIL-6刺激によって初めてルシフェラーゼ活性を示し、活性発現に炎症性サイトカイン刺激を必要とした。ハプロタイプ間に活性の差が認められ、*SAA1* α と連鎖不平衡にあるC-C-Gに対する相対的ルシフェラーゼ活性はG-C-Gが83%、G-C-Aが59%、

C-T-Gが120%であった。プロモーターハプロタイプC-T-Gは*SAA1* γ 遺伝子と連鎖不平衡にある。

D. 考察

本検討では、プロモーターハプロタイプC-T-Gでプロモーター活性の亢進がみられた。C-T-Gハプロタイプは唯一-13T変異をもち*SAA1* γ 遺伝子に強い連鎖不平衡を示す。したがって-13Tは*SAA1* mRNA転写活性を亢進させ*SAA1*蛋白の産生を増加させるので、その結果としてアミロイド沈着が増加する可能性が考えられる。これはSAA/CRP比の血中レベルでの検討で*SAA1* β がもっとも高値という結果と矛盾する。しかし血中濃度は産生と代謝 (クリアランスあるいは沈着) のバランスから決定される。実際、マウスでは2種類あるSAAのうちアミロイド原性のisotypeがアミロイド発症マウスではむしろ低下することが報告されている。

したがって、*SAA1* γ タンパクは産生が多いが代謝あるいは沈着が促進されているため、相対的血中濃度が低下している可能性が考えられる。

E. 結論

同程度の炎症刺激によっても、*SAA1* γ mRNAは*SAA1* α や β mRNAより過剰に産生されるが、おそらく代謝が異なるため*SAA1* γ 蛋白の血中濃度は低下する。*SAA1* γ 遺伝子保有者では、産生と代謝の両者の違いによりAA-アミロイドーシスを発症しやすいと考えられる。

参考文献

1. Moriguchi M, Terai C, Koseki Y, Uesato M, Kamatani N, et al. Influence of genotypes at *SAA1* and *SAA2* loci on the development and the length of latent period of secondary AA-amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis. Hum Genet, 105:360-366, 1999.

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. M Moriguchi, C Terai, H Kaneko, Y Koseki, H Kajiyama, M Uesato, S Inada, N Kamatani. A novel single-nucleotide polymorphism at the 5'-flanking region of *SAA1* associated with risk of type AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Arth Rheum* 44; 1266-1272, 2001.

2. M Moriguchi, C Terai, Y Koseki, M Uesato, T Nishikawa, N Kamatani. Genotypes at *SAA1* locus correlate with the clinical severity of AA-amyloidosis. *Amyloid*, 8; 115-120, 2001.

3. 寺井千尋：関節リウマチに伴うアミロイドーシス。今日の治療指針（多賀須幸男ら監修）、pp531-532、医学書院、東京、2002

4. 寺井千尋。アミロイドーシス。リウマチナビゲーター（中村耕三ら編集）、pp58-59、メディカルビュー社、東京、2001

2. 学会発表

1. Kaneko H, Terai C, Moriguchi M, Koseki Y, Kajiyama H, Kamatani N. Up-regulation of transcriptional activity by a single nucleotide polymorphism at the 5' flanking region of *SAA1* gene that was associated with risk for AA-amyloidosis secondary to RA. *Arth Rheum* 44;S358, 2001

2. Terai C, Kaneko H, Koseki Y, Kajiyama H, Maury CPJ, et al. *SAA1* gene analysis in the patients with AA-amyloidosis from three different populations. *Arth Rheum* 46; S549, 2002.

3. 金子裕隆、寺井千尋、小関由美、梶山浩、森口正人、鎌谷直之。SAA1遺伝子promoter領域SNPsの転写因子結合への影響。第46回日本リウマチ学会総会。神戸 リウマチ、42; 420, 2002

4. Koseki Y, Terai C, Moriguchi M, Kaneko H, Uesato M, Kamatani N. Influence of serum amyloid A (SAA) on lipid metabolism in patients with rheumatoid arthritis. *Arth Rheum* 43; S68, 2000

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

3. 特許取得

特記事項なし

4. 実用新案登録

特記事項なし

5. その他

特記事項なし

関節リウマチにおける抗FRP抗体と治療抵抗性の関連の検討

分担研究者： 田中 真生 京都大学臨床免疫学・助手

研究協力者： 尾崎 承一

（聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科・教授）

研究要旨

抗ホリスタチン関連蛋白（FRP）抗体は、疾患活動性に相関して関節リウマチ（RA）患者血清中に検出される自己抗体の一つである。よって抗FRP抗体がRAにおいて治療抵抗性の指標となる可能性が考えられた。抗FRP抗体陽性患者と陰性患者の経過1年の治療歴を比較すると、治療を強化されたと判断された症例数は陽性患者で多く認められた。retrospective studyではあるが、RAにおいて抗FRP抗体検出と治療抵抗性に関連があることが示唆された。

A. 研究目的

我々は関節リウマチ(RA)の新たな自己抗体として、ホリスタチン関連蛋白(FRP)および新規可溶性gp130(gp130-RAPS)に対する自己抗体を同定した。これら自己抗体のRAにおける検出感度/検出特異度は抗FRP抗体で0.30/0.93, 抗gp130-RAPS抗体で0.73/0.97であり, RAに比較的特異的な自己抗体と考えられた。しかし昨今, 抗フィラグリン抗体や抗CCP抗体等の抗シトルリン化蛋白抗体がRAで特異的に検出され(特異度~0.98), しかも発症早期から検出されることが複数の施設で確認され, 疾患標識抗体の第一候補となっている。一方, 抗FRP抗体および抗gp130-RAPS抗体はどちらもRAの疾患活動性に相関して検出される。よって抗FRP抗体および抗gp130-RAPS抗体はRAの診断のみならず, RAの病型評価への有用性が示唆された。我々はまず抗FRP抗体について, RAの治療抵抗性の指標としての有用性を検討した。

B. 研究方法

RA患者67例を無作為に選択し, 血清中の抗FRP抗体の有無を解析した。抗FRP抗体陽性群と陰性群の年齢, 男女比, 履病歴, 抗FRP抗体評価後1年間のステロイドおよびメトトレキサート投与量

変化を比較した。血清抗FRP抗体の解析は大腸菌発現リコンビナントFRPを用いたイムノブロット法により行った。

C. 研究結果

RA患者67例中, 抗FRP抗体陽性者は20例, 陰性者は47例であった。抗FRP抗体陽性群と陰性群では, 年齢は 49 ± 10 vs 53 ± 13 (Mean \pm SD), 男女比は2(10%)/18(90%) vs 6(13%)/41(87%), 履病歴は 5.9 ± 5.4 vs 6.9 ± 7.0 (Mean \pm SD) で特に相違を認めなかった。ステロイドおよびメトトレキサート投与量は 3.6 ± 5.3 vs 3.3 ± 5.8 (mg/day) および 1.1 ± 2.2 vs 1.0 ± 2.3 (mg/week) で両群で特に相違を認めなかった。しかし両群の間で, 経過1年間の投与量増加例または薬剤変更例は6(30%) vs 8(17%), 投与量減少例は2(10%) vs 12(26%), 無変更例は11(55%) vs 26(55%)であり, 治療を強化されたと判断された例は抗FRP抗体陽性群で多く認められた。

D. 考察

RAでは疾患活動性を抑えるため種々の薬剤を選択し適当量投与する。治療強化のため投与量を増やしたり投薬内容の変更を余儀なくされる症例は治療抵抗性と判断される。この1年間の

retrospective studyより, 抗FRP抗体の検出と治療抵抗性の関連が示唆された.

E. 結論

今後この仮説を検証するため, 治療内容の他に基本評価指標 (ACRコアセット) も加えcohort studyを実施する必要がある.

F. 健康危険情報

該当無し.

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka, M., et al.: Potential preventive effects of follistatin-related protein / TSC-36 on joint destruction and antagonistic modulation of its autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Int Immunol*

15: 71-77 2003

2. 学会発表

Kasabata, D., Tanaka, M., et al.: Ameliorative effects of follistatin-related protein on joint inflammation in arthritis model mice. American College of Rheumatology 66th Annual Scientific Meeting, USA, Sep. 2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

Ozaki S, Tanaka M, et al.: Autoantigens (WO97/17441)

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

劇症型抗リン脂質抗体症候群：日本での実態とその病態解明の研究

分担研究者： 市川 健司 国立療養所西札幌病院リウマチ科・医長

研究要旨

劇症型抗リン脂質抗体症候群は、最近疾患概念が確立されてきた予後不良の病態であるが、本邦での実態に関しては、十分な調査が行われていなかった。そこで、本研究では、全国の専門医にアンケート調査を行い、本邦での劇症型抗リン脂質抗体症候群の実態を明らかにすることを目的とした。調査の結果、以下のことがわかった。劇症型抗リン脂質抗体症候群は、抗リン脂質抗体症候群の約1.6%にみられる希な疾患であり、男女比1:2で女性に多く、男性では女性に比べ高齢者に多い。約半数の症例は、基礎疾患として全身性エリテマトーデスを有し、何らかの誘因が半数以上にみられ、肺病変、中枢神経病変、腎障害の頻度が高く、多臓器を障害する。検討した22例の劇症型抗リン脂質抗体症候群全例においてループスアンチコアグラントが陽性であり、劇症型抗リン脂質抗体症候群の病態形成において、ループスアンチコアグラントが重要な役割を果たしている可能性がある。副腎皮質ステロイド薬、血漿交換、抗凝固薬、抗血小板薬等にて治療されているが、45%は死亡しており予後不良であることが明らかになった。抗血小板薬を使用した患者の予後がややよいが、どの治療法が有意に優れているかは明らかではなく症例の蓄積、前向きな臨床研究、病態生理の解明が必要と考えられる。

A. 研究目的

1992年にAshersonにより提唱された劇症型抗リン脂質抗体症候群は、抗リン脂質抗体症候群の中で、細・小血管の多発性血栓による多臓器不全を呈する難治性の予後不良な患者群であることが欧米での研究で示されてきている。ステロイド剤、免疫抑制剤、血漿交換療法等の治療法が試みられているが、その効果は限られており、治療方針が確立されていない。また、抗リン脂質抗体症候群の発症には、遺伝的背景が関与しており人種差があることが示されてきている。劇症型抗リン脂質抗体症候群に関する検討が、欧米にてなされてきたが、その結果が日本人に当てはまるとは限らない。従って、本邦での、劇症型抗リン脂質抗体症候群に関する組織的な調査を行い病像を把握する必要がある。

本研究では、劇症型抗リン脂質抗体症候群患者の臨床像の特徴を明らかにすることにより、難治性で予後不良とされる劇症型抗リン脂質抗体症候群患者の早期診断法を検討し、早期診断・早期

治療による予後の改善を目指す。劇症型抗リン脂質抗体症候群の治療法、およびその成績を調査することにより、効果的な治療指針を確立する基礎とする。

B. 研究方法

日本リウマチ学会評議員の所属する約350施設・診療部門（整形外科をのぞく）に、受診歴のある劇症型抗リン脂質抗体症候群患者の有無および、その臨床像をアンケート調査した。劇症型抗リン脂質抗体症候群の診断基準として、2002年9-10月にイタリアで開かれた、第10回国際抗リン脂質抗体シンポジウムにて提唱された分類基準を用いた。アンケート項目は、発症時に診断されていた自己免疫疾患、誘因と考えられる感染症・外科的処置・抗凝固療法や抗血小板療法の中絶・悪性腫瘍の合併等の有無、発症前にみられた抗リン脂質抗体症候群の症状・所見、劇症型抗リン脂質抗体症候群発症時に出現した臓器病変、抗カルジオリピン抗体・ループスアンチコアグラント・抗β2-グロ

プロテインI抗体価・抗核抗体・抗DNA抗体等の自己抗体のプロフィール、主要な検査成績、行われた治療法及びその効果について調査結果を統計学的に解析し、本邦における抗リン脂質抗体の特徴を明らかにし、効果的な治療戦略を検討する基礎データを作成する。

(倫理面の配慮)

アンケートには、患者個人が特定される情報が含まれないよう配慮した。

C. 研究結果

全国の整形外科以外のリウマチ学会評議員の所属する約350施設・診療部門にアンケート調査を行ない126施設(36%)より回答を得た。

抗リン脂質抗体症候群約1100例中18例(1.6%)に劇症型抗リン脂質抗体症候群が発症した。臨床像に関する回答が得られた14例と文献の報告8例、合計22例について検討を行った。22例の年齢は、7-73歳で平均40.5歳であり、女性14例(67%)、平均34.4歳、男性7例(33%)、平均52.9歳と女性が多く、若年である傾向を認めた。

基礎疾患は、原発性抗リン脂質抗体症候群12例で、平均年齢50歳、男女比は1:1であり1例は軟骨炎を合併していた。全身性エリテマトーデスは、10例で、平均年齢32歳、男女比は、1:9で2例はシェーグレン症候群を合併していた。

何らかの誘因を有する例は、22例中12例(55%)あった。その内訳は、悪性腫瘍4例(18%) (肺癌3例、悪性黒色種1例)、感染症3例(14%)、抗凝固薬の減量・中断2例(9%)、妊娠合併症と外科的処置が1例(5%)であった。

臓器障害は、肺梗塞、ARDS、肺水腫等の肺病変は、劇症型抗リン脂質抗体症候群患者の86%に、脳梗塞等の中枢神経障害は77%、腎障害は55%、肝障害は32%、消化管病変は27%、皮膚潰瘍は23%の症例に認め、肺病変、中枢神経病変、腎障害の頻度が高いことがわかった。6例がDICと診断された。

各抗リン脂質抗体の検出頻度は、ループスアン

チコアグラントは、22例全例にて検出された。抗カルジオリピン抗体は、IgGクラスは、17例で測定され12例(71%)が陽性で、IgMクラスは、5例中2例(40%)が陽性でした。IgGクラスの抗β₂-グリオプロテインI抗体は、9例中6例(67%)で陽性であった。

その他の検査所見では、抗核抗体が、検討された21例中15例(71%)に検出され、抗DNA抗体は4例に検出された。破碎赤血球は、検討された11例中4例にて認められ、1例は血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)と診断された。

治療は、2例に関しては十分な情報が得られなかったが、他の20例に関しては、副腎皮質ステロイド剤が16例に、ワーファリン等の抗凝固療法18例に、血漿交換療法が11例に、アスピリン等の抗血小板剤が9例に、血液透析が7例に用いられていた。シクロホスファミド等の免疫抑制剤は、4例のみに、免疫グロブリンの大量静注療法は1例のみに用いられていた。

22例中12例55%が軽快した。軽快した患者群は、死亡群に比べ発症から治療開始までの期間が短い傾向が見られた。副腎皮質ステロイド剤による治療、抗凝固療法、抗血小板療法の各治療を受けた患者の中で軽快した患者の割合は、各56%、56%、67%でありどの治療法が優れているとはいえなかった。

D. 考察

劇症型抗リン脂質抗体症候群は、抗リン脂質抗体症候群患者の約1.6%に認められる、珍しい病態であることがわかった。故に、その臨床像を明らかにするためには、大規模な疫学調査、多施設の共同研究が不可欠と考えられた。発症年齢は、小児から、高齢者に及びどの年齢にも発症することがわかった。男女比は、1:2で女性に多く、Ashersonらの欧米の症例をまとめた、女性が79%と多いとする報告と同様である。また、女性は、男性に比べ、若年者に発症しやすいことがわかった。この結果は、原発性抗リン脂質抗体症候群に出現した劇症型は、男女比が1:1であるのに対し、全身性エ