

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内科学リウマチ・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なため、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。対象はamyopathicDMを含むDM患者で抗アミノアシルtRNA合成酵素抗体陰性の症候性間質性肺炎合併例に限定した。シクロホスファミド間歇投与とシクロスポリン経口投与の有用性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、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年後の呼吸機能とした。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

予後不良な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、シクロホスファミド間歇投与とシクロスポリン経口投与との有用性を比較する多施設共同無作為割付比較対照試験（RCT）を行う。

B. 研究方法

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。また、これまでに報告されている治療のエビデンスを参考資料とした。

C. 研究結果

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。長期生存例のうち在宅酸素療法に至った症例が2例あり、いずれも治療経過中にカリニ肺炎を合併していた。バクタの予防投与が行われた症例にはカリニ肺炎の合併がみられなかった。文献的には、シクロスポリンやタクロリムスの有用性を示唆する報告が散見された。

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

患者で抗アミノアシルtRNA合成酵素抗体が陰性の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。対照群はシクロスポリン3mg/kgを連日経口投与し、試験群はシクロホスファミドを間歇投与する。両群ともステロイド大量療法（PSL 1mg/kg、重症例はパルス療法可）を併用し、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15mg/kgを3～4週間毎に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（シクロスポリンはシクロホスファミドまたはアザチオプリン、シクロホスファミドはシクロスポリンまたはアザチオプリンに変更する。主要エンドポイントは死亡、再燃、2年後の肺機能（%VC）とする。日和見感染症対策として一定のプロトコルを定める。2群間の比較解析はintention-to-treat解析とし、1群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ものであり、世界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 予後不良の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投与とシクロスポリンとの有用性を比較する多施設共同無作為割付比較対照試験のプロトコルを作成した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

1) 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) Hiroaki Arakawa, Hidehiro Yamada, Yasuyuki Kurihara, et al. Nonspecific Interstitial Pneumonia Associated With Polymyositis and Dermatomyositis. *Chest* 123:1096-103, 2003

3) Hiroaki Arakawa, Masaomi Yamasaki, Yasuyuki Kurihara, Hidehiro Yamada, Yasuo Nakajima. Methotrexate-Induced Pulmonary

Injury: Serial CT findings. J Thorac Imaging
18:231-6, 2003.

4) 山前正臣、山田秀裕 間質性肺炎 三森
経世編 リウマチ・膠原病診療チェックリス
ト p.67-71, 2004

学会発表

1) 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.

2) M. Yamasaki, H. Yamada, Y. Yamasaki,
M. Okubo, S. Ozaki. Intralobular Distribution
Pattern of Fibrosis Can Predict the Clinical

Outcome of Polymyositis (PM)
/Dermatomyositis(DM)-Associated NSIP. Annual
European Congress of Rheumatology 2003.

3) Yoshioki Yamasaki, Hidehiro Yamada,
Michiko Okubo, Masaomi Yamasaki, Nobuaki
Hama, Shoichi Ozaki. Intravenous
Cyclophosphamide for the Treatment of
Progressive Interstitial Pneumonia in Patients
With Polymyositis / Dermatomyositis. 99th
International Conference of American Thoracic
Society 2003

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（藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科・教授）
研究協力者： 深谷 修作（藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科・講師）

研究要旨

【目的】膠原病（CTD）患者の肺高血圧症（PH）合併率に関する多数例での報告は少ない。そこでCTDにおけるPH合併率調査を第1の目的とした。また、PH合併率は報告により大きく異なり、PHのスクリーニング法に問題があると考えられる。そこでCTD性PHのスクリーニング法の検討を第2の目的とした。最後に、CTD性PHの病因・病態の解析を第3の目的とした。

【方法】調査期間は平成15年9月中旬から11月中旬の2ヶ月間とした。本研究班の臨床系の班員が所属する医療施設を受診したCTD患者5例につき1例を無作為に抽出して対象とした。調査項目は、混合性結合組織病（MCTD）PH診断の手引きに記されている臨床症状の有無、胸部X線写真、心電図、心臓超音波検査（UCG）、肺機能検査、肺血流シンチグラム、右心カテーテル検査とした。

【結果】548例に調査が行われ、解析可能症例数は536例であった。42例（7.8%）にPH合併を認め、全身性硬化症とMCTDでは多発性筋炎・皮膚筋炎に比し高率であった（ $p=0.04$ 、 $p=0.01$ ）。PHに特徴的な臨床所見を認めた症例では無症候性例に比し高率にPHを合併し（ $p<0.0001$ ）、推定肺動脈圧（PA）も高値であった（ $p=0.0004$ ）。さらに、これらの所見の陽性項目数と推定PA圧とは正相関を認めた（ $p=0.0002$ ）。しかし、PH合併例の47.5%（19例）が無症候性であった。PH合併例では%1秒率、TLC、%VCと推定PA圧との間には関連を見いだせなかったが、%DLCOとは負相関を認めた（ $p=0.02$ ）。肺血流シンチグラフィ施行例は17例しかなく、十分な検討はできなかった。

【結語】1. CTDのPH合併率は7.8%であった。2. PHのスクリーニングにはUCGが必要と考えられた。3. CTD性PHは前毛細血管性の可能性が高い。しかし、さらなる病因・病態の解析には肺機能検査や肺血流シンチグラフィ施行例を増やす必要がある。

A. 研究目的

膠原病（CTD）患者での肺高血圧症（PH）合併は高率であることが知られている。しかし、多施設の多数例での検討は少ない。そこで、多施設多数例でのPH合併率を明らかにすることを第1の目的とした。

さらに、PHの合併率は報告によって大きく異なる。PHのスクリーニング方法が異なることがその一因と考えられる。そこで、混合性結合組織病（MCTD）PH診断の手引きに記されているPHに関連する臨床症状の有無、胸部X線写真、心電図所見とPHとの関連を検討し、CTD性PHのスクリーニング方法を提唱するこ

とを第2の目的とした。

また、PHには前毛細血管性（原発性PH様）や後毛細血管性（肺線維症などに伴う）PH、慢性マクロ血栓症によるPH、慢性ミクロ血栓症によるPHがある。CTD性PHの多くは前毛細血管性PHと考えられているが明らかではない。また、慢性マクロ血栓症によるPHは、外科的治療が第1選択であり、それにより完治させる可能性がある。したがって、PHの原因として慢性マクロ血栓症を検討することは不可欠と考えられる。そこで、CTD例、特にPH合併例において肺機能検査や肺血流シンチグラフィを施行し、PHの病因・病態を検討すること

を第3の目的とした。

B. 研究方法

調査期間は平成15年9月中旬から11月中旬までの2ヶ月間とした。本研究班の臨床系班員が所属する医療機関を受診したCTD患者の5例につき1例を無作為に抽出し対象とした。MCTD PH診断の手引き¹⁾に記載されている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(PA)音の亢進、④胸部X線写真でのPA本幹部の拡大または左第2弓突出、⑤心電図での右室肥大または右室負荷所見、の5項目を必須の調査項目とした。⑥心臓超音波検査(UCG)での推定PA圧、⑦右心カテーテルでの平均PA圧、⑧肺機能検査(%DLCO、%1秒率、TLC、%VC)と⑨肺血流シンチグラフィは可能な限り施行することとした。また、診断可能なCTD病名についても回答を求めた。各医療機関に調査用紙を送付し、平成16年1月17日を回答期限とし調査票を回収した。

PH合併の有無の判定はこれらの調査項目からMCTD PH診断の手引きに準拠して行い、CTDにおけるPHの合併率をもとめた。①から⑤の項目とPH合併の有無、推定PA圧との関連を検討した。また、診断可能なCTD病名とPH合併の有無との関連も検討した。

PHの病因・病態の検討のため、肺機能検査結果と推定PA圧、肺血流シンチグラム所見とPHとの関連を検討した。

推計学的検討は、合併率の差の検定には χ^2 検定、平均値の差の検定にはt検定、相関の検定には回帰分析、Spearmanの順位相関を用いた。

C. 研究結果

548例の回答が得られ、全身性エリテマトーデス(SLE)199例、全身性硬化症(SSc)113例、多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)66例、MCTD50例、その他および不明120例であった(表1)。PH合併解析可能例数は536例でPH合併例数は42例(7.8%)であった。CTD各疾患のPH合併率は、SLE9.3%、SSc11.4%、PM/DM1.5%、

MCTD16.0%で、SSc、MCTDではPM/DMに比しPHの合併が有意に高率であった($p=0.04$ 、 $p=0.01$) (図1)。

研究方法で述べた①から⑤のPHを示唆する臨床症状・所見を少なくとも1つ以上認めたか否かでPH合併頻度の差を検討した。106例でこれらの症状・所見を認め、21例(19.8%)にPHが合併していた。認めなかった423例ではPHの合併は19例(4.5%)であり、これらの症状・所見を認めた症例でPHは高率に合併していた($p<0.0001$) (表2)。しかし、PH合併40例中19例(47.5%)で、これらの症状・所見を認めなかったことになる。次に、PH合併例においてこれらの臨床症状・所見とUCGによる推定PA圧との関連を検討した。これらの症状・所見を認めた群の推定PA圧平均値は 49.0 ± 17.4 mmHgで認めなかった群の 32.9 ± 3.8 mmHgに比し有意に高値であった

($p=0.0004$)。また、これらの症状・所見5項目中の陽性項目数は推定PA圧と正相関を認めた($p=0.0002$)。

最後に、CTD性PHの病因・病態を検討するため、肺機能検査所見、肺血流シンチグラム所見とPHとの関連を調べた。肺機能検査施行例が45例と少数で十分な検討ではないが、PH合併例で%1秒率、TLC、%VCと推定PA圧との関連は見いだせなかった。しかし、%DLCOとは有意な負相関を認めた($p=0.02$) (図2)。また、肺血流シンチグラフィ施行例も17例だけであった。17例中13例にPHを認め、このうち6例に肺血流シンチグラム所見の異常を認めた。なお、慢性マクロ血栓症を示唆する異常を呈した症例はなかった。

D. 考察

CTD患者では高率(7.8%)にPHの合併を認めた。この合併率は以前の厚生労働省MCTD研究班の報告²⁾に比しやや高率であった。この理由として、以前の報告ではPH合併の判定は主治医に委ねられており、PH合併を示唆する臨床症状・所見を認めない症例にはUCGが施行されておらず、PHの合併が見逃されていた

可能性が考えられる。今回の調査では、197例(35.9%)にUCGが施行されていたことにより、PH合併率が以前の調査に比べやや高率となった可能性がある。今回の調査でPH合併例のうち、これらの症状・所見を認めなかった症例を除くと以前の報告と同程度の合併率(4.0%)となることもこの可能性を支持する。注目すべきはPH合併例の47.5%が、これらの症状・所見を認めなかったことである。UCG未施行の状態(換言すれば、PHの合併を示唆する臨床症状・所見を認めないというだけで)PH合併を否定することはできないと考えられた。WHO原発性PHワールド・シンポジウム(1998年)では「強皮症スペクトラムの疾患ではPHの徴候のあるなしに関わらず、UCGを毎年実施することが推奨される」との意見が述べられているが、強皮症スペクトラムの疾患だけでなく、CTD患者でのPHスクリーニングにはUCGが必要と考えられた。さらに、CTDに合併したPHの(自然)経過を正しく知るためにも、積極的にPHの検索を行い、軽症PH例を継続的に観察していく必要がある。

しかし、PH合併を示唆する臨床症状・所見はPHとは無関係なのだろうか。そこで、PH合併例でこれらの症状・所見の有無、5項目中の陽性項目数と推定PA圧との関連を検討した。これらの症状・所見を認めた群では認めなかった群に比し推定PA圧は有意に高値で($p=0.0004$)、陽性項目数と推定PA圧とも有意な正相関を認めた($p=0.0002$)。すなわち、これらの症状・所見はPHの程度(PA圧)を推測するには有用な指標と考えられた。

%1秒率、TLC、%VCの肺機能検査所見と推定PA圧とは関連を見いだせなかった。このことはCTD性PHは%VC、TLCで代表される肺の拘束性障害や%1秒率、TLCで代表される閉塞性障害と関連して生じている可能性が低いことを示している可能性がある。また、推定PA圧は%DLCOとは負相関を認めた($p=0.02$)。これらのことより、CTD性PHは主に前毛細血管性であるとする従来の考えを支持するものであった。肺血流シンチグラムは施行例が少なく、

症例数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

1. CTDのPH合併率は7.8%であった。2. 無症候性のPH合併例があるため、PHのスクリーニングにはUCGが必要である。3. CTD性PHは前毛細血管性の可能性が高い。4. CTDに合併したPHの病因・病態を検討するには肺機能検査や肺血流シンチシンチグラフィ施行例を増やす必要がある。

文献

1. 厚生省結合組織病調査研究班：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
2. 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：24-27, 1999

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 深谷修作, 吉田俊治：混合性結合組織病の肺高血圧症。Mebio 20:46-49, 2003.
- 2) 大竹智子, 吉田俊治, 芦原 睦：RA患者におけるQOLとストレス対処行動。ストレスと臨床 17:13-19, 2003.
- 3) 深谷修作, 吉田俊治：基本的治療方針 混合性結合組織病 今月の治療 11:1264-1271, 2003.
- 4) 大塚清香, 大津史子, 吉田俊治, 他：薬剤師のための患者の自覚症状(訴え)及び個人背景に基づく膠原病発症の可能性評価 医療薬学 29:596-574, 2003.
- 5) 吉田俊治：診断の進歩 膠原病の診断基準の進歩 医学のあゆみ別冊 膠原病 19-23, 2003.
- 6) 水谷昭衛, 深谷修作, 吉田俊治：アデノウ

イルス肺炎 臨床医 29:1991-1994, 2003.

7)水谷昭衛、吉田俊治：膠原病薬物治療の実際 膠原病に伴う肺高血圧症 医薬ジャーナル 39:3272-3278, 2003.

8)片山雅夫、吉田俊治：最先端の薬物治療 副腎皮質ステロイド薬 カレントセラピー 22:23-27, 2003

9)大竹智子、浅原 睦、吉田俊治：全身性エリテマトーデス レジデントノート 5:120-123, 2004.

2. 学会発表

1)吉田俊治：膠原病に伴う肺高血圧症 第18回日本臨床リウマチ学会総会 スポンサー・シンポジウム7、札幌、2003.

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

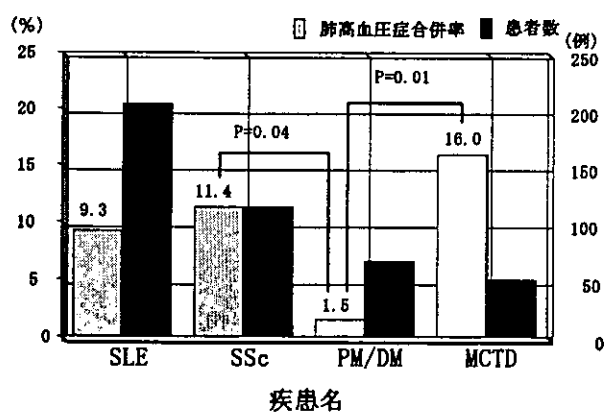


図1. 疾患別肺高血圧症合併率

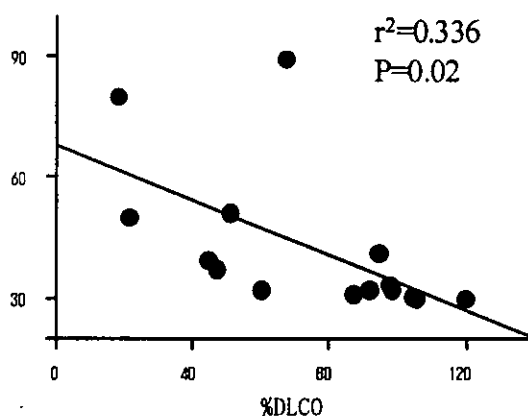


図2. %DLCOと推定肺動脈圧との関連

SLE	SSc	PM/DM	MCTD	その他・不明	計
199	113	66	50	120	548

その他：シェーグレン症候群：19例
 ベーチェット病：13例
 大動脈炎症候群：7例
 アレルギー性肉芽腫性血管炎：6例
 UCTD：5例
 成人発症ステイル病：4例
 結節性多発動脈炎：4例
 原発性抗リン脂質抗体症候群：1例
 若年性関節リウマチ：1例
 重複症候群：12例
 SLE+SSc：6例
 SSc+PM/DM：5例
 SLE+PM/DM：1例
 不明：48例

表1. 疾患の内訳

PH	肺高血圧症		
	あり	なし	計
あり	21	85	106
なし	19	404	423

$P < 0.0001$

表2. 臨床症状などの有無と肺高血圧症の有無

ループス腎炎における流血中自己抗原(PCNA複合体)の病因的意義の検討

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

我々は、全身性エリテマトーデス(SLE)患者にて、活動期にproliferating cell nuclear antigen(PCNA)陽性活性化単核球が出現し、その血清中にPCNAが検出されることを見いだした。また、PCNAがその細胞内機能に関連しながら種々の蛋白と結合して形成する蛋白複合体(PCNA複合体)を、モノクロナール抗体を用いて特異的に精製する方法を開発し、それに対する免疫応答を各種膠原病患者にて解析した結果、この複合体に対する免疫応答はSLE患者にて特異的に認められ、流血中のPCNAおよびその複合体によって誘導されていることを明らかにした。さらに、この流血中の抗原は、抗体産生を誘導するばかりではなく、免疫複合体を形成し、SLEにおけるループス腎炎の病態に深く関与している可能性も示した。今回の研究では、2D-ゲル電気泳動およびion-pair chromatographyを用いてPCNA複合体の構成蛋白の成分解析を行い、分子量37-kDa、等電点8.5の蛋白が、Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)であり、SLE患者自己抗体の認識する新たな自己抗原あることを明らかにした。細菌などの感染症で、GAPDHに対する抗体産生が誘導されることが知られており、溶血連鎖球菌感染症後の腎炎の病態形成への関与も示唆されていることから、PCNA複合体に対する免疫応答の誘導とループス腎炎における本抗原の関連性を示唆する興味深い結果と思われた。また、今回は、血漿交換療法による抗原除去療法についての基礎的検討を加え、その有用性を示唆する結果を得た。

A. 研究目的

SLE患者における自己抗体の産生と、免疫複合体の供給源としてループス腎炎の病態形成に関与していると考えられるPCNA蛋白複合体の構成成分を解析し、その抗体産生誘導のメカニズムについて検討を加えた。また、血漿交換療法による抗原除去療法についての基礎的研究を行い、その有用性について検討した。

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76例を対象とした。
- 2)PCNA複合体の精製は抗PCNAモノクロナール抗体(TOB7,TO17およびTO30)を用いたアフ

- イニティークロマトグラフィーにて行った。
- 3)PCNA複合体の各構成成分に対する免疫応答は免疫プロット法(IB)にて解析した。
- 4)流血中のPCNA複合体は二つの異なるモノクロナール抗体(TOB7,TO30)を用いた sandwich ELISA(sELISA)で検出した。
- 5)2D-ゲル電気泳動でPCNA複合体の各成分を分離後、ion-pair chromatographyを用いて、構成成分の同定を行った。
- 6)血漿交換療法（二重膜濾過法）による流血中抗原除去について検討した。

C. 研究結果

- 1)SLE患者におけるPCNA複合体に対する免疫応答

抗PCNAモノクローナル抗体(TOB7)を用いたアフィニティーカラムでPCNA複合体を精製し(図1A: lane 1、PCNAに加え、lane 2から6のreplication protein A, DNA helicase II, Topoisomerase I, CDK5, p21などの蛋白が共存する)、IBにて76例のSLE患者の反応性を検討した結果、その37%が複合体の構成蛋白の少なくとも一つと反応し、さらに同一の血清が複数の蛋白と反応する傾向が認められた(図1B)。

2)PCNA複合体の構成蛋白の解析

2D-ゲル電気泳動法にてPCNA構成蛋白を分離したところ、分子量37-kDa、等電点4.3のPCNAと考えられる蛋白に加え(図2、A)、分子量37-kDa、等電点8.5の蛋白が比較的大量に存在する蛋白として検出された(図2、B)。そこで、この蛋白を切り出し、加水分解後、そのアミノ酸組成をion-pair chromatographyで解析した結果、GAPDHであることが明らかとなった。

3)各種膠原病患者における抗GAPDH抗体

精製ウサギGAPDHを抗原源としたELISAにて各種膠原病患者における抗GAPDH抗体を検出した(図3)。その結果、SLE患者の47%で陽性となり、シェーグレン症候群の11%、強皮症の10%、混合性結合組織病の10%、関節リウマチの8%に比較して有意に高率となっていた。

4)蛍光抗体間接法(IF)によるGAPDHの細胞内分布の分析

ニトロセルロース紙に転写したGAPDHを用い、抗GAPDH抗体陽性SLE患者血清ISより抗体を精製し、HEp-2細胞を核材として、IFにて染色した。精製前(図4A)は、細胞質染色に加え、核質にspeckledおよびnucleolar型の染色が認められたが、精製血清では細胞質の抗ミトコンドリア抗体様の染色に加え、わずかなspeckled型の染色が核質に見られ、さらに一部の細胞では(矢印および拡大写真)核小体を除く核質への集積が確認された。このことからGAPDHはSLE患者で特異的に認識される新たな抗細胞質および抗核抗体であること

が示された。

5)GAPDHと免疫応答のspreading

抗GAPDH抗体陽性SLE患者SHのPCNA複合体に対する反応を経時的に観察した(図5B)。本症例では、当初37-kDaのGAPDH(Aはモノクローナル抗体による染色)への反応が強く認められるのみであったが、その後その他の構成成分に対する免疫応答のspreadingが認められ、治療と再燃により出現と消退を繰り返していた。また、症例MS(図5C)も当初は37-kDa GAPDHとの反応を認めるのみであったが、その後、40-そして16-kDa蛋白、さらに高分子量の蛋白群への免疫応答の広がりも認められていた。また、データは示さないが、sELISAを用いてSLE患者76例中の流血中PCNAを測定すると、54%の症例で7から294 ng/mlのPCNAが検出され、流血中抗原を認める61%で抗GAPDH抗体が検出されたのに対し、流血中抗原陰性群では31%と有意に低値となっていた($P < 0.0001$)。この事実は本抗体産生誘導における抗原提示の重要性を示唆する所見と思われた。

6)血漿交換療法と抗原除去

我々のこれまでの研究結果や抗GAPDH抗体と流血中抗原の関係は、血中抗原のPCNA複合体に対する免疫応答誘導における重要な役割を示唆する所見と考えられた。そこで、この抗原を二重膜濾過法による血漿交換療法で除去可能かどうか実際の症例で検討した。症例TYは抗dsDNA抗体陰性であったが、腎症を発症した。その治療目的で実施した血漿交換療法の前後で血中PCNAを測定すると、実施後の患者血清では有意にPCNAの抗原濃度が低下し、蛋白尿も改善していた。

D. 考察

SLEでは患者末梢血に疾患活動性に相関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¹⁾。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¹⁾。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ている。また、それと同時に免疫複合体の上昇と、それに関連して腎症の増悪が認められていた^{1,2)}。

これまでの検討ではこれら複合体に対するトランスの破綻を導く機構が不明であった。今回の検討でGAPDHに対する自己抗体がSLEにて検出されることを明らかにしたが、抗GAPDH抗体は溶連菌感染症でも検出され、感染症後に引き起こされる腎症の責任分子であることも示唆されている³⁾。従って、我々の結果は、このSLE患者血清中における抗GAPDH抗体のループス腎炎の病態形成における意義を示唆する極めて興味深い発見と考えられる。

また、この抗体産生と免疫複合体の供給源となりうる流血中抗原は血漿交換により除去可能であることが示され、今後、これらの抗原除去療法という概念を取り込んだ新たな治療の有用性も示唆された。

E. 結 論

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ているが、複合体中のGAPDHはこの複合体への免疫応答を誘導する上で中心的な役割を演じている可能性が示唆された。また、その抗体と抗原は腎症の発症に関与している可能性も示唆された。この意味で抗原を積極的に除去する血漿交換療法などの併用は、ステロイド薬による治療をより効果的に高める可能性があると考えられた。

F. 文 献

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

2)高崎芳成, 山田浩史, 縄田益之, 他: 流血中PCNA蛋白複合体と腎病変. 厚生労働科学研究補助金 免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業平成14年度研究報告書, 240-243, 2003

3)Yamakami K, Yoshizawa N, Wakabayashi K, et al: The potential role for nephritis-associated plasmin receptor in acute poststreptococcal glomerulonephritis. *Methods* 21: 185-197, 2000

図1 SLE患者におけるPCNA複合体に対する免疫応答

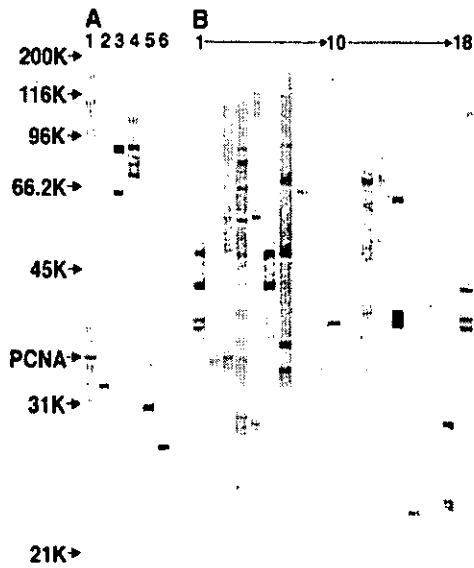


図2 PCNA複合体の構成蛋白の解析

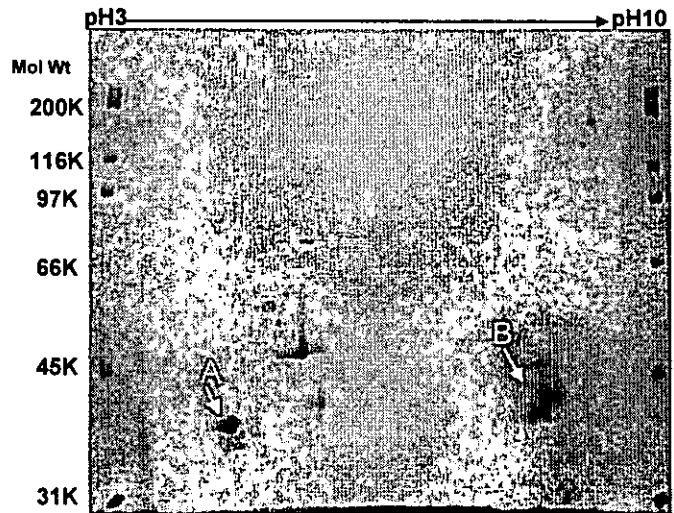


図3 各種膠原病患者における抗GAPDH抗体

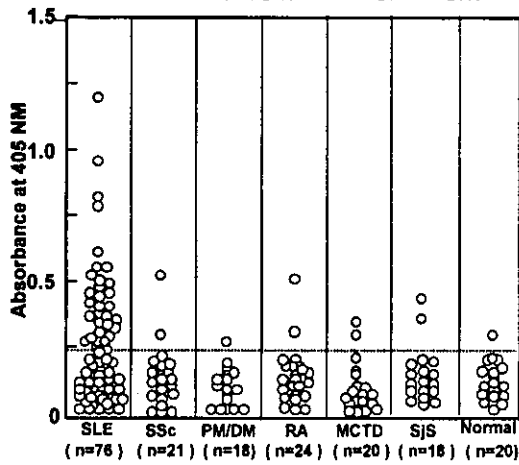


図4 蛍光抗体間接法 (IF) によるGAPDHの細胞内分布の分析

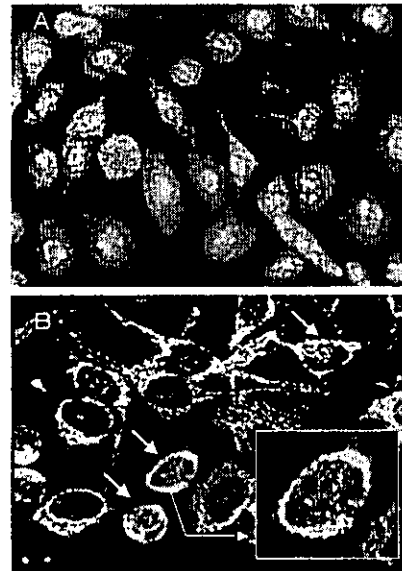


図5 GAPDHからPCNA複合体構成蛋白への免疫応答の展開

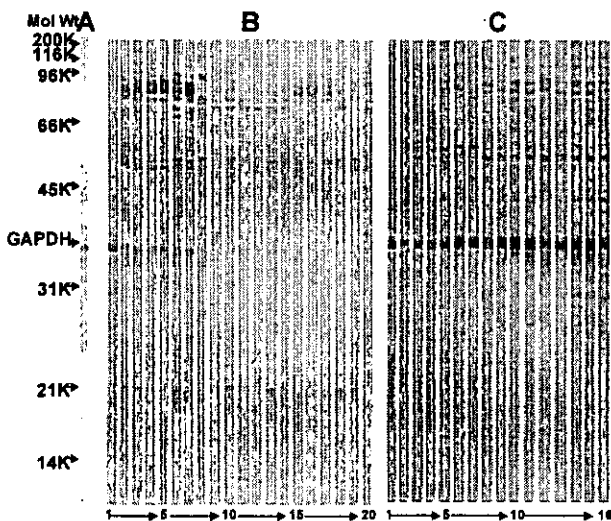
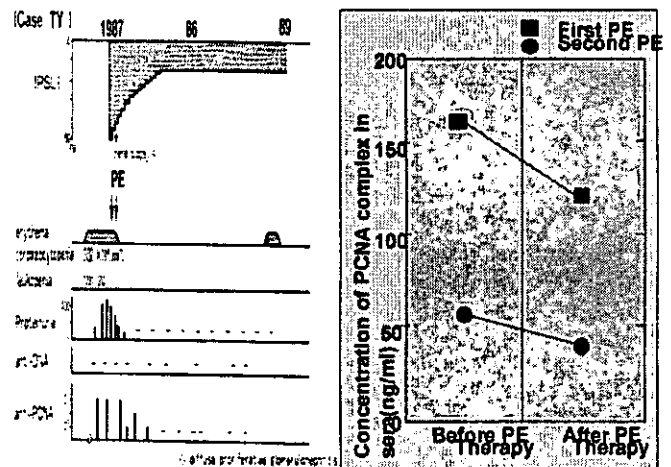


図6 血漿交換療法と抗原除去



¹³C標識脂肪酸吸収呼気試験を用いた全身性強皮症の腸管病変の評価に関する研究

分担研究者 遠藤 平仁（北里大学医学部内科学V・講師）

研究協力者 橋本篤、河野静、吉田秀、飯塚進子、坂井美保（北里大学医学部内科学V）

研究要旨

全身性強皮症は高率に消化管病変を合併する。腸管病変は蠕動低下、腸内細菌過剰増殖をきたし吸収不良症候群をきたす難治性臓器合併症である。しかしモニターする客観的な検査法はなかった。安定同位体¹³C標識混合脂肪酸吸収呼気試験は標識した植物性脂肪の腸管からの吸収を測定する検査である。強皮症の腸管病変の機能について脂肪酸吸収能を指標として検討した。SSc 7例の中で5例の消化管病変を呈する例は全例脂肪酸吸収能が低下し、ピーク値やピーク時間も低下しており強皮症の腸管病変のモニターに脂肪酸吸収試験は有用ではないかと思われた。

A. 研究目的

全身性強皮症は消化管の平滑筋萎縮線維化、粘膜下線維化により機能障害を呈する。腸管病変も20～30%の症例に認められるが診断に際して自覚症状、単純レントゲン写真および吸収不良症候群についても糞便中脂肪含量の測定など定量的な検査法はない。腸管吸収不良は脂肪が障害される。しかし脂肪便の測定やアイソトープを用いた吸収試験があるが煩雑であり繰り返し行うことは困難である。¹³C標識脂肪酸吸収呼気試験は近年痔疾患や炎症性腸疾患などに適応し吸収不良症候群の診断に有用性が報告されている。簡便で繰り返し施行することができる。全身性強皮症の腸管病変においてこの吸収呼気試験の有用性について検討した。

B. 研究方法

北里大学病院外来通院中のSSc患者7例及びコントロールとして健常人5名の¹³C標識混合脂肪酸吸収呼気試験をおこなった。SSc 7例はdiffuse cutaneous SSc,平均年齢61歳、平均罹病期間6.1年、偽性腸閉塞の既往3例、在宅中心静脈栄養法1例、肺線維症4例であった。前日より禁食、空腹時¹³C標識混合脂肪酸（ク

ロレラ工業）200mgカプセルを摂取、30分毎、200mlアルミ呼気バックに呼気を回収、8時間後まで計16回呼気を回収。呼気バック中の¹³CO₂の存在比率を赤外分析装置（UBiT-IR300, 大塚電子）で測定し $\Delta^{13}\text{CO}_2$ （‰）計測した。8時間の¹³C累積回収率（¹³C cumulative % dose）、ピーク値を算出し結果の判定をおこなった。なおこの測定は北里大学病院倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

¹³C-3時間累積回収率2.62 ± 0.56%（健常人）、0.86 ± 0.25%（SSc：消化管病変n=5）、¹³C-8時間累積回収率 8.3 ± 0.48%（健常人）3.62 ± 0.5%（SSc: n=7）、2.75 ± 0.1%（SSc: n=5）（図1）SScの消化管病変を有する例の脂肪酸吸収が有意に低く3時間で健常人の33%、8時間で健常人の75%であった。また呼気¹³CO₂排出のピーク時間は健常人127 ± 24分、SSc165 ± 40分、ピーク値は127 ± 6.1（‰）、SScは70 ± 26.6（‰）とSScで低く消化管蠕動低下、吸収の低下を反映していると考えられた。

D. 考察

SScは高率に消化管病変を合併する。とくに

腸管病変は蠕動低下、腸内細菌叢の過剰増殖をきたし栄養吸収不良をきたし体重減少などを惹起し患者QOLの低下を引き起こしている。消化管吸収機能は脂肪吸収障害が生じる。検査法として古典的な便中脂肪測定やラジオアイソトープ¹⁴C標識物の吸収により測定する方法があったが煩雑であり繰り返し施行することが困難であった。¹⁴C標識物を用いた測定では43%のSSc症例で脂肪吸収障害が存在すると報告されているが詳細な検討はなされていない。安定同位体¹³C標識混合脂肪酸呼気試験は簡便な方法で繰り返し行うことが可能である。病状の推移、治療効果判定に際して有用なモニターの手法になりうる。SSc患者においてX-P及び自覚症状により消化管とくに腸管病変を合併している患者は呼気試験の結果より脂肪吸収障害が明確でありまた最大に吸収されるピーク値の低下もその指標になると考えられた。また消化管蠕動障害を反映しピーク時間は健常人より60分遅れた。TPNを導入しているSSc患者は累積呼気回収率8時間の値は短腸症候群において小腸を40cm残して切除した患者と同程度であった。8時間累積呼気回収率は健常者の75%程度であったが、

服用後3時間の3時間累積呼気回収率は健常人の平均33%と著明な低下を示していた。多くの患者は消化管機能改善薬や抗菌薬を服用しているが最終的な腸管の消化吸収に及ぼす効果についてこの検査を用いて検討することが可能ではないかと考えられた。

F. 文献

1. Sjogren,RW, Gastrointestinal motility disorders in scleroderma, Arthritis Rheum, 9,1265-1282,1994
2. ¹³C-呼気試験の実際、基礎と実践的応用、¹³C医学応用研究会、2001
3. Lundberg,A-C, Akesson A,Akesson B, Dietary intake and nutritional status in patients with systemic sclerosis. Ann Rheum Dis, 51,1143-1148, 1992

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的所有権の出願・登録状況 なし

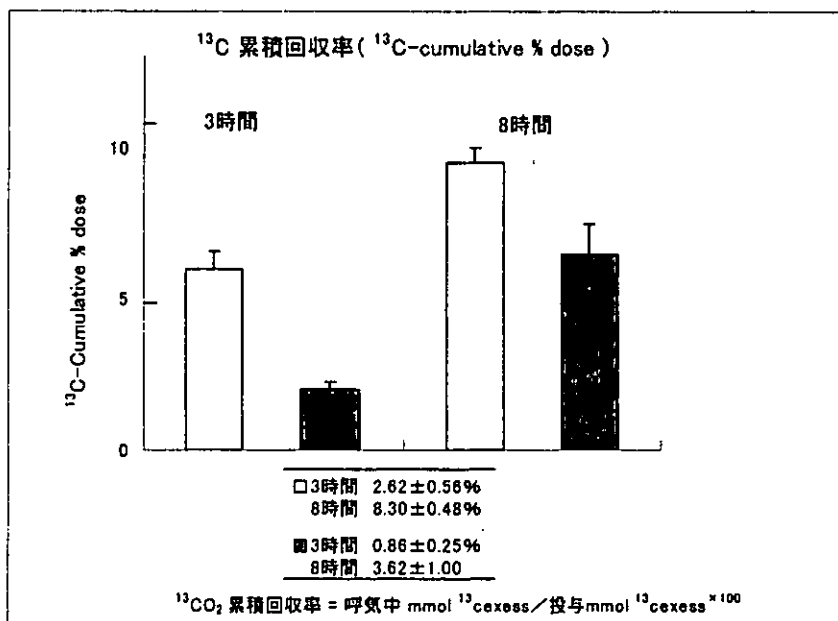


図1. 強皮症と健常人の脂肪酸吸収呼気試験

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(京都大学大学院臨床免疫学・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)

三森 経世(京都大学大学院臨床免疫学・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。経過1年の治療歴を比較するretrospective studyから抗FRP抗体はRAにおける治療抵抗性の指標となる可能性が考えられた。そしてこの仮説を検証するため、症例を登録し経過を1年ごとに記録するprospective studyを開始した。症例の血清を収集すると同時に、抗FRP抗体を多検体で効率よく検出するELISAの開発に着手し、この仮説の検証が可能な段階に進んでいる。

A. 研究目的

ホリスタチン関連蛋白(FRP)に対する自己抗体は関節リウマチ(RA)の新規な自己抗体の一つである。大腸菌発現ヒトFRPを用いたイムノブロット法による抗FRP抗体のRAにおける検出感度/検出特異度は0.30/0.93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より、疾患標識抗体の第一候補となっている。一方、抗FRP抗体はRAの疾患活動性に相関して検出される。さらに抗FRP抗体陽性群と陰性群の間で、経過1年間の薬剤投与量増加例または薬剤変更例は30% vs 17%、投与量減少例は10% vs 26%、無変更例は55% vs 55%であり、治療を強化されたと判断される例は抗FRP抗体陽性群で多く認められた(図1)。また *in vitro* 実験で、培養滑膜細胞にFRPを添加すると関節破壊のエフェクターであるMMP-1, MMP-3およびPGE₂の産生が用量依存性に抑制され、反対に抗FRP抗体の添加によってFRPの活性が阻害され、それらの産生は亢進した(図2)。また *in vivo* 実験でFRPはマウス関節炎の発症予防効果を示した。従ってFRPと抗

FRP抗体は、それぞれRA関節炎の保護因子(defensive factor)と増悪因子(offensive factor)と考えられた。以上よりRAにおいて抗FRP抗体が治療抵抗性の指標となりうる可能性が示唆された。そしてRAの治療抵抗性の長期的指標としての抗FRP抗体の有用性を多数の症例で検討するためELISAによる測定系の樹立に着手した。

B. 研究方法

1) 抗原の作製: ELISAに供する抗原として真核細胞発現ヒトFRP(hFRP)を大量に精製した。そのため発現効率がバキュロウイルス発現システムに匹敵するとされるショウジョウバエSchneider S2(S2)細胞を用いた発現システムを用いた(インビトロジェン社, DES®: Drosophila発現システム)。そしてこの系で、メタロチオネインプロモーターと細胞外分泌シグナル(BiPシグナル)を持ち、硫酸銅添加でリコンビナント蛋白の発現が誘導され、細胞外に分泌される発現ベクターを用いた。リコンビナントhFRPは精製が容易になるように、またインタクトな蛋白が得られるようにC末に6xHisタグを付加した。培地中のリコンビナントhFRPはNi²⁺イオンよりも非特異的吸着の少ないCo²⁺イオンを用いたレジンカラム(BDクロンテック社、

TALON™ Metal Affinity Resin)でまず粗精製を行った。粗精製したリコンビナントhFRPはさらにイオン交換クロマトグラフィー(アマシャムファルマシア社, MonoQカラム, ÄKTA explorer 10Sシステム)で最終精製した(図3)。

2)ELISA測定系の樹立(予定): 抗原となる6xHisタグ標識hFRPをNi²⁺-NTAスペーサーを介してポリスチレンプレートに結合させシグナル・ノイズ比の高い測定系を組み立てる。

3)患者の登録と血清の収集: 本研究班の共同プロジェクトで85例のRA患者血清が集まった。登録票を集計し一部合併症による分類を行った(プロジェクト研究の項を参照)。今後1年ごとの経過票で症例の治療およびその反応性, 転帰を追跡調査する。

C. 研究結果

Drosophila発現システムにより, 1Lあたり52mgと高効率でリコンビナントhFRPを得た。C末端の6xHisタグで精製したためインタクトなhFRPが得られた。そして昆虫細胞による糖鎖付加のため, 大腸菌発現hFRPよりnativeに近い分子量(50~55kDa)のリコンビナント蛋白が得られた。検体となるRA患者血清は85例集まった。

D. 考察

多検体を扱い再現性の高い自己抗体測定にはELISAが適しているが, 測定系としての良否は抗原とプレートに依存する。抗原の作製について質と量の問題は両立が困難な場合が多いが, 今回は昆虫細胞発現で糖鎖が付加された, よりnativeに近いhFRPが得られた。また収量も十分得られた。このリコンビナントhFRPを用いることによりスループットの高い抗FRP抗体検出系の実現が期待出来る。

E. 結論

抗FRP抗体検出系の開発, および血清サンプルの収集も進行している。症例プロフィールも登録票を集計し解析中である。よって今後1年ごとに経過を追跡し, 「抗FRP抗体が治療抵抗性の

長期的指標になりうるか」という命題の検証が可能な段階に進んでいる。

F. 健康危険情報 なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1)Kawabata, D, Tanaka, M., Mimori, T., Ozaki, S., et al.: Ameliorative effects of follistatin-related protein on joint inflammation in arthritis model mice. *Arthritis Rheum.* 50:660-668, 2004.

2)Tanaka, M., Ozaki, S., Mimori, T., 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.

3)田中真生, 三森経世: 関節リウマチと関連する新たな自己抗体. *リウマチ科* 29(4) 412-416, 2003.

2. 学会発表

1)田中真生: 関節リウマチ滑膜細胞におけるホリスタチン関連蛋白(FRP)の抗炎症性サイトカイン作用. 第47回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京, 2003年5月。

2)田中真生: 関節リウマチ滑膜細胞におけるホリスタチン関連蛋白(FRP/FSTL1)の抗炎症性サイトカイン作用. 第33回日本免疫学会総会・学術集会, 福岡, 2003年12月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

1. 特許取得

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

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

図1. 抗FRP抗体によるRA患者の1年間治療経過の比較

Patients' profiles	Anti-FRP antibody (+) patients (n=20)	Anti-FRP antibody (-) patients (n=47)
	Mean \pm SD	
Age (year)	49 \pm 10	53 \pm 13
Disease duration (year)	5.9 \pm 5.4	6.9 \pm 7.0
Medication		
Prednisolone (mg/day)	3.6 \pm 5.3	3.3 \pm 5.8
Methotrexate (mg/week)	1.1 \pm 2.2	1.0 \pm 2.3
	Number (%)	
Sex ratio (male/female)	2 (10) / 18 (90)	6 (13) / 41 (87)
Medication changes*		
dosage decreased	2 (10)	12 (26)
dosage not changed	11 (55)	26 (55)
dosage increased or medication altered†	6 (30)	8 (17)

* For one-year period from the time when serum samples were taken.
† Altered not for side effects but for poor disease control.

図2. FRPおよび抗FRP抗体の滑膜関節破壊エフェクター産生に対する作用

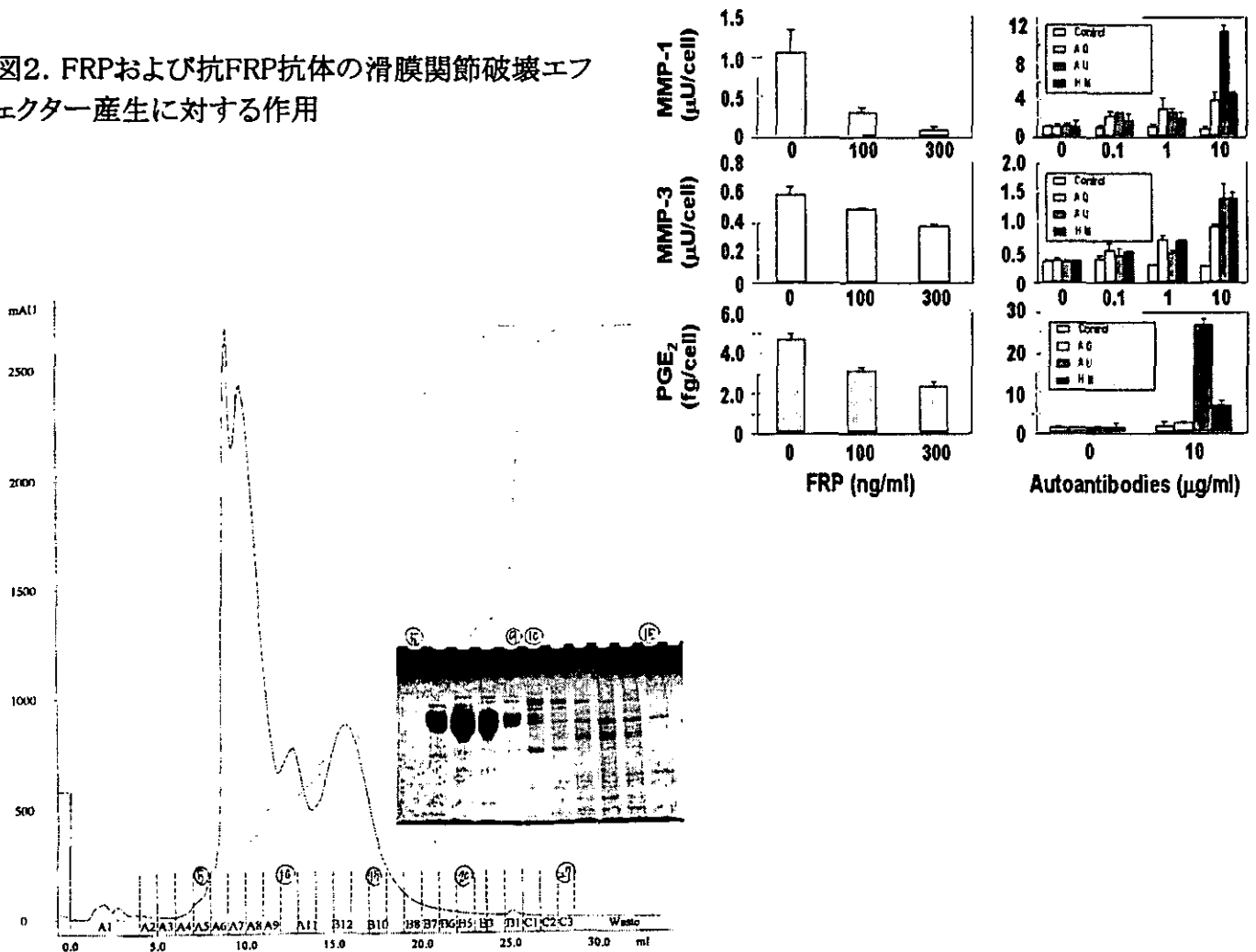


図3. イオン交換クロマトグラフィーによるリコンビナントヒトFRPの精製

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

【雑誌】

研究者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	頁	出版年
三森 経世	Effect of Intermittent Cyclical Etidronate Therapy on Corticosteroid Induced Osteoporosis in Japanese Patients with Connective Tissue Disease: 3 Year Followup	J Rheumatol	30	2673-2679	2003
三森 経世	Pseudoscleroderma associated with transforming growth factor β 1-producing advanced gastric carcinoma: Comment on the article by Varga	Arthritis Rheum	48	1766-1767	2003
三森 経世	High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis	Scand J Rheumatol	32	197-204	2003
三森 経世	Characterization of anticytoplasmic antibodies in patients with systemic autoimmune diseases	Mod Rheumatol	13	333-338	2003
三森 経世	Membrane-bound form of fractalkine induces IFN- γ production by NK cells	Eur J Immunol	33	53-58	2003
三森 経世	Potential preventive effects of follistatin-related protein/TSC-36 on joint destruction and antagonistic modulation of its autoantibodies in rheumatoid arthritis	International Immunol	15	71-77	2003
三森 経世	Ameliorative Effects of Follistatin-Related Protein/TSC-36/FSTL1 on Joint Inflammation in a Mouse Model of Arthritis	Arthritis Rheum	50	660-668	2004
三森 経世	抗リウマチ薬・免疫抑制薬	Current Therapy	22 (1)	18-22	2003
三森 経世	関節リウマチの治療ガイドライン	Mebio	20 (12)	14-18	2003
三森 経世	関節リウマチの新しい血清マーカー - シトルリン化蛋白に対する自己抗体 -	Pharma Medica	21 (12)	33-37	2003
三森 経世	自己抗体の測定法と対応抗原の分析	臨床検査	47 (13)	1619-1625	2003
三森 経世	免疫疾患の病態解明と治療戦略の進歩	Molecular Medicine	40 (増刊号)	268-274	2003
三森 経世	膠原病の治療 - 現況と問題点, 今後の方向 -	今月の治療	11 (11)	64 (1232) - 68 (1236)	2003
三森 経世	リウマチの鑑別診断	関節外科	22 (増刊号)	19-23	2003
三森 経世	膠原病診療における臨床検査	日本内科学会雑誌	92 (10)	1 (1901) - 3 (1903)	2003
三森 経世	DMARDsに関するエビデンス	EBMジャーナル	4 (5)	14 (518) - 20 (524)	2003

三森 経世	関節リウマチの早期診断における抗フィラグリン/CCP抗体の意義	臨床免疫	40 (2)	185-189	2003
三森 経世	抗ARS抗体	内科	91 (6)	1295-1296	2003
三森 経世	Amyopathic dermato-myositis (ADM)	内科	91 (6)	1294	2003
三森 経世	エビデンスに基づくRA診療ガイドライン 抗リウマチ薬	診断と治療	91 (5)	809-815	2003
三森 経世	関節リウマチの新しい自己抗体	炎症と免疫	11 (3)	112 (358) - 116 (362)	2003
三森 経世	関節リウマチと関連する新たな自己抗体	リウマチ科	29 (4)	412-416	2003
三森 経世	関節痛・関節腫脹	診断と治療	91 (Suppl)	379-385	2003
三森 経世	自己抗体	Medico	34 (4)	4 (128) - 7 (131)	2003
三森 経世	関節リウマチの新たな自己抗体-抗シトルリシ化タンパク抗体	内科	93 (2)	233-236	2004
三森 経世	多発性筋炎・皮膚筋炎	診断と治療	92 (2)	277-281	2004
三森 経世	インフリキシマブ	Cardiac Practice	15 (1)	100-102	2004
市川 健司	Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement	Rheumatology	42	773-7	2003
遠藤 平仁	Host prostaglandin E2-EP3 signaling regulates Tumor-associated angiogenesis and Tumor growth	J Exp Med	20	221-232	2003
遠藤 平仁	Differential Expression of Leukotriene B4 receptor subtypes(BLT1 and BLT2) in human synovial tissues and synovial fluid leukocytes of patients with rheumatoid arthritis	J Rheum	30 (8)	1712-1718	2003
遠藤 平仁	Retrovirally introduced prostaglandin D2 synthetase suppresses lung injury induced by bleomycin	Am J Respir Cell Mol Biol	28	582-591	2003
遠藤 平仁	Inhibition of Monosodium Urate Monohydrate Crystal-Induced Acute Inflammation by Retrovirally Transfected Prostaglandin D synthase	Arthritis Rheum	48	2931- 2941	2003
遠藤 平仁	Assessment of inflamed synovial membrane in the knee joint by dynamic magnetic resonance imaging	Mod Rheum	13	227-230	2003

遠藤 平仁	炎症性疾患とPGE受容体サブタイプ	リウマチ科	27 (3)	292-297	2002
遠藤 平仁	消化管にみられる線維症と治療	現代医療	35	117-121	2003
遠藤 平仁	炎症病巣におけるロイコトリエン受容体の発現	臨床免疫	39	671-677	2003
遠藤 平仁	関節リウマチとロイコトリエン受容体	炎症再生		231-236	2003
遠藤 平仁	全身性強皮症に伴う腎病変、腎疾患2003-2005	医学のあゆみ		340-342	2003
桑名 正隆	Effect of intermittent cyclical etidronate therapy on corticosteroid-induced osteoporosis in Japanese patients with connective tissue disease: 3 year followup	J Rheumatol	30 (12)	2673-2679	2003
桑名 正隆	A novel protein highly expressed in testis is overexpressed in systemic sclerosis fibroblasts and targeted by autoantibodies	J Immunol	171 (12)	6883-6890	2003
桑名 正隆	Initial predictors of development of pure red cell aplasia in myasthenia gravis after thymectomy	Clin Neurol Neurosurg	106 (1)	16-18	2003
桑名 正隆	Human circulating CD14+ monocytes as a source of progenitors that exhibit mesenchymal cell differentiation	J Leukoc Biol	74 (5)	833-845	2003
桑名 正隆	HLA class II alleles in systemic sclerosis patients with anti-RNA polymerase I/III antibody: associations with subunit reactivities	J Rheumatol	30 (11)	2392-2397	2003
桑名 正隆	Dry eye is a major complication associated with chronic graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation	Cornea	22 (10)	S19-S27	2003
桑名 正隆	Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease	Bone Marrow Transplant	31 (7)	579-583	2003
桑名 正隆	Autoreactive T cells to the P3A+ isoform of AChR subunit in myasthenia gravis	J Neuro-immunol	137 (1-2)	177-186	2003
桑名 正隆	Anti-c-Mpl (thrombopoietin receptor) autoantibody-induced amegakaryocytic thrombocytopenia in a patient with systemic sclerosis	Arthritis Rheum	48 (6)	1647-1651	2003
桑名 正隆	Evaluation of functional disability using the Health Assessment Questionnaire in Japanese patients with systemic sclerosis	J Rheumatol	30 (6)	1253-1258	2003
桑名 正隆	A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis	Hepatology	37 (6)	1267-1276	2003