

Fig. 1. A representative result of microarray analysis. A cDNA microarray was hybridized with fluorescent-labeled probes prepared from salivary glands from MRL/+ mouse (red) and from MRL/lpr mouse (green). Yellow spots represent equal expression in MRL/+ and MRL/lpr mouse salivary glands. Arrows 1–6, indicate typical signals of candidate genes, which are considered to be highly expressed in MRL/lpr mouse salivary glands. Arrows 1–6 are: Laptm5, Gnai2, Mel-14 antigen, Ly-6C.2, vimentin and mPt1, respectively. Arrowheads indicate the three yellow spots of external control.

MRL/lpr mouse for isolation of Sjögren's syndrome-related genes.

First, we screened 2304 genes in cDNA microarray analysis, and obtained 13 genes that were highly expressed in MRL/lpr mouse salivary glands (Table 2). Second, we confirmed the overexpression of these genes by RT-PCR analysis, and finally confirmed that nine out of 13 genes were distinctly upregulated in our Sjögren's syndrome model mouse (Fig. 2 Table 2). Five of the identified nine genes; Caspase 3, Ly-6C, vimentin, Mel-14 antigen and cathepsin B have already been recognized in patients with Sjögren's syndrome or Sjögren's syndrome model mouse [26–31]. Although a high expression of caspase 3 has been reported in Sjögren's syndrome model mouse NOD [26], however, MRL/lpr mouse is Fas-deficient and thus lacks the Fas/Fas ligand pathway-dependent apoptosis. This suggests that Fas/Fas ligand pathway-independent apoptosis,

such as perforin and granzyme-dependent apoptosis [32] is induced in MRL/lpr mouse salivary gland.

To our knowledge, the remaining four genes; mpt1, Laptm5, Gnai2 and UCP2, have not been identified previously as Sjögren's syndrome-related genes. Mpt1 or Dres9 was cloned as a mouse homologue of *Drosophila* retinal degeneration B (*rdgB*), and the mpt1 protein has been predicted as a membrane bound phosphatidylinositol transfer protein (PITP) [33,34]. PITP transports phosphatidylinositol (PI) through the aqueous phase from one membrane compartment to another and functions as a cofactor for the synthesis of phosphatidylinositol bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) [35]. Since constitutive turnover of PI is markedly augmented in some of the subsets of T lymphocytes in MRL/lpr mouse [36], it is fair to speculate that such T cells accumulate and are related to the pathogenesis of Sjögren's syndrome. Laptm5 is highly expressed in adult hematopoietic organs; such as bone marrow, spleen, thymus, lymph

Table 2  
Genes with high expression levels in MRL/lpr mice salivary gland

Clone name (accession number)	Gene name (symbol) (accession number)	Fold change <sup>a</sup>
1480803 (AI037098)	Mouse caspase 3 (NM_009810)	2.31 <sup>b</sup>
1969907 (AI663213)	Mouse lymphocyte differentiation antigen Ly-6C.2 (M18466)	2.75 <sup>b</sup>
1969699 (AI574495)	Mouse vimentin (M26251)	2.21 <sup>b</sup>
mMel-14	Mouse peripheral lymph node-specific homing receptor (MEL-14 antigen) (M25324)	3.50 <sup>b</sup>
1969956 (AI663243)	Mouse cathepsin B (NM_007798)	1.84 <sup>b</sup>
1970113 (AI664599)	Mouse membrane-associated phosphatidylinositol transfer protein (mpt1) (AF006467)	1.98 <sup>b</sup>
1969674 (AI574466)	Mouse lysosomal-associated protein transmembrane 5 (Laptm5) (NM_010686)	2.16 <sup>b</sup>
1498753 (AI119137)	Mouse guanine nucleotide binding protein, alpha inhibiting 2 (Gnai2) (NM_008138)	1.93 <sup>b</sup>
MNCb-6135(AU080839)	Mouse UCP2 (U69135)	2.06 <sup>b</sup>
1480898 (AI035714)	Mouse saposin = sphingolipid activator protein (S36200)	1.88
1969761(AI663092)	Mouse translationally regulated transcript (Trt) (NM_009429)	1.82
1969802(AI663120)	Mouse laminin receptor 1 (Lamr1) (NM_011029)	2.02
1431867 (AA989833)	Mouse heat shock protein 70 cognate (M19141)	1.61

<sup>a</sup> The averages of fold change based on the normalized microarray fluorescent data of MRL/lpr compared with MRL/+ ( $n = 8$ ). The clone of MEL-14 antigen was obtained from mRNA of mouse spleen by TA cloning using primers, 5'-CTGCTCTGTTGTGACTTCCTG-3', 5'-CTAATGTGGGAGATGCCTGCG-3', the insert size was 2.2k bp.

<sup>b</sup> Nine genes identified to be highly expressed in the salivary gland in the present study. Bold-marked genes are genes identified in the present study to be related to Sjögren's syndrome in our mouse model.

nodes, and peripheral blood leukocytes [37]. The high expression of Laptm5 in our MRL/lpr mouse model of Sjögren's syndrome could be due to increased number of infiltrated lymphocytes in the salivary glands. Further experimental studies are required to clarify the role of Laptm5 in the pathogenesis of Sjögren's syndrome. The mitochondrial protein known as uncoupling protein 2 (UCP2) is highly expressed in spleen and macrophages. Recent report suggests that UCP2 plays a role in limiting macrophage-mediated immunity [38,39]. UCP2 expression is induced by TNF- $\alpha$  [40] and the expression of TNF- $\alpha$  is increased in MRL/lpr mouse [41]. Combined together, these findings suggest that increased TNF- $\alpha$  in MRL/lpr salivary gland could contribute to the upregulation of UCP2 and subsequent disease progression.

As indicated above, high expression levels of transcripts or proteins of five out of the nine genes identified in our study have already been reported in patients with Sjögren's syndrome or mice models of the syndrome

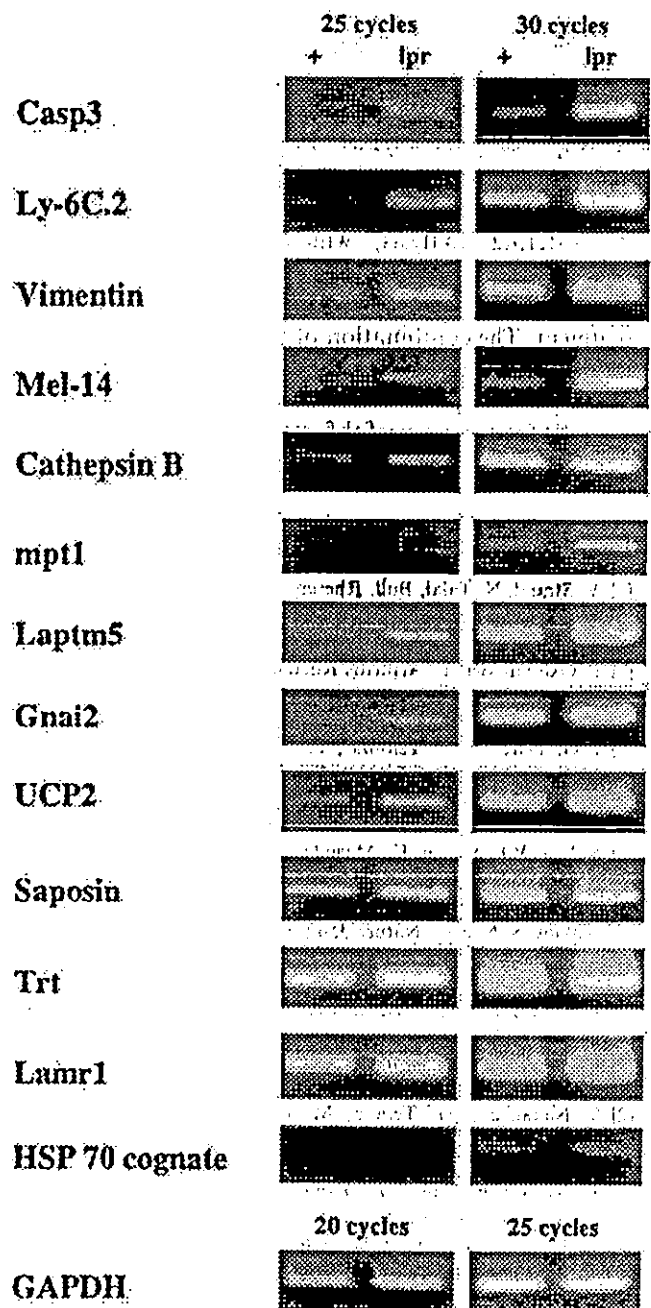


Fig. 2. Confirmation of microarray results by semi-quantitative RT-PCR. Thirteen candidate genes selected by cDNA microarray were analyzed. RT-PCR amplification were performed at 25 and 30 cycles, + and lpr represent MRL/+, MRL/lpr mice, respectively. As a control, GAPDH was amplified at 20 and 25 cycles.

[26–31]. These early findings confirm the excellent specificity and reproducibility of our cDNA microarray analysis for identification of disease-related genes. Microarray system can handle thousands of genes, and helps in the extraction of genes that have significant relationship to the stages of the disease. In addition, in-house cDNA microarray is advantageous in allowing the exchange of the arrayed genes, and array the specific

disease-related genes on one glass slide, which is useful for the diagnosis and prediction of clinical stages.

In the present study, we isolated nine Sjögren's syndrome-related genes on a cDNA microarray using MRL/lpr Sjögren's syndrome model mouse. Further studies may allow the identification of other Sjögren's syndrome-related genes, thus allowing the performance of clustering analysis, which could provide useful information about classification of the disease, clinical course, stage of the disease and selection of a suitable treatment. The combination of in-house microarray and use of model animals is a suitable strategy to explore the gene expression profile and should gradually evolve into a significant system useful for clinical investigation.

## References

- [1] V. Strand, N. Talal, *Bull. Rheum. Dis.* 30 (1979) 1046–1052.
- [2] T.C. Adamson, R.I. Fox, D.M. Frisman, F.V. Howell, *J. Immunol.* 130 (1983) 203–208.
- [3] P. Oxholm, *Semin. Arthritis Rheum.* 22 (1992) 114–126.
- [4] L.J. Dawson, P.M. Smith, R.J. Moots, E.A. Field, *Rheumatology (Oxford)* 39 (2000) 234–237.
- [5] U.G. Dafni, A.G. Tzioufas, P. Staikos, F.N. Skopouli, H.M. Moutsopoulos, *Ann. Rheum. Dis.* 56 (1997) 521–525.
- [6] R.I. Fox, in: Sullivan (Ed.), *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes*, vol. 2, Plenum Press, 1998, pp. 891–902.
- [7] S. Izui, V.E. Kelley, K. Masuda, H. Yoshida, J.B. Roths, E.D. Murphy, *J. Immunol.* 133 (1984) 227–233.
- [8] R. Watanabe-Fukunaga, C.I. Brannan, N.G. Copeland, N.A. Jenkins, S. Nagata, *Nature* 356 (1992) 314–317.
- [9] Y. Hayashi, N. Haneji, H. Hamano, *Pathol. Int.* 44 (1994) 559–568.
- [10] D.A. Jabs, B. Lee, J. Whittum-Hudson, R.A. Prendergast, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42 (2001) 399–401.
- [11] P.L. Cohen, R.A. Eisenberg, *Annu. Rev. Immunol.* 9 (1991) 243–269.
- [12] S. Nakatsuru, M. Terada, M. Nishihara, J. Kamogawa, T. Miyazaki, W.M. Qu, K. Morimoto, C. Yazawa, H. Ogasawara, Y. Abe, K. Fukui, G. Ichien, M.R. Ito, S. Mori, Y. Nakamura, M. Nose, *Pathol. Int.* 49 (1999) 974–982.
- [13] P. Liang, A.B. Pardee, *Science* 257 (1992) 967–971.
- [14] L. Diatchenko, Y.F. Lau, A.P. Campbell, A. Chenchik, F. Moqadam, B. Huang, S. Lukyanov, K. Lukyanov, N. Gurskaya, E.D. Sverdlov, P.D. Siebert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (1996) 6025–6030.
- [15] M. Schena, D. Shalon, R.W. Davis, P.O. Brown, *Science* 270 (1995) 467–470.
- [16] V.E. Velculescu, L. Zhang, B. Vogelstein, K.W. Kinzler, *Science* 270 (1995) 484–487.
- [17] P.O. Brown, D. Botstein, *Nat. Genet.* 21 (1999) 33–37.
- [18] T. Yoshikawa, Y. Nagasugi, T. Azuma, M. Kato, S. Sugano, K. Hashimoto, Y. Masuho, M. Muramatsu, N. Seki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275 (2000) 532–537.
- [19] A.A. Alizadeh, M.B. Eisen, R.E. Davis, C. Ma, I.S. Lossos, A. Rosenwald, J.C. Boldrick, H. Sabet, T. Tran, X. Yu, J.I. Powell, L. Yang, G.E. Marti, T. Moore, J. Hudson, L. Lu, D.B. Lewis, R. Tibshirani, G. Sherlock, W.C. Chan, T.C. Greiner, D.D. Weisenburger, J.O. Armitage, R. Warnke, R. Levy, W. Wilson, M.R. Grever, J.C. Byrd, D. Botstein, P.O. Brown, L.M. Staudt, *Nature* 403 (2000) 503–511.
- [20] R. Luthi-Carter, A. Strand, N.L. Peters, S.M. Solano, Z.R. Hollingsworth, A.S. Menon, A.S. Frey, B.S. Spektor, E.B. Penney, G. Schilling, C.A. Ross, D.R. Borchelt, S.J. Tapscott, A.B. Young, J.H. Cha, J.M. Olson, *Hum. Mol. Genet.* 9 (2000) 1259–1271.
- [21] L.W. Stanton, L.J. Garrard, D. Damm, B.L. Garrick, A. Lam, A.M. Kapoun, Q. Zheng, A.A. Protter, G.F. Schreiner, R.T. White, *Circ. Res.* 86 (2000) 939–945.
- [22] S.C. van Blokland, C.G. van Helden-Meeuwse, A.F. Wierenga-Wolf, H.A. Drexhage, H. Hooijkaas, J.P. van de Merwe, J.P.M.A. Versnel, *Lab. Invest.* 80 (2000) 575–585.
- [23] M.G. Humphreys-Beher, Y. Hu, Y. Nakagawa, P.L. Wang, K.R. Purushotham, *Adv. Exp. Med. Biol.* 350 (1994) 631–636.
- [24] H.S. Kessler, M. Cubberly, W. Manski, *Arch. Ophthalmol.* 85 (1971) 211–219.
- [25] Y. Hayashi, N. Haneji, H. Hamano, *Autoimmunity* 23 (1996) 269–277.
- [26] C.P. Robinson, S. Yamachika, C.E. Alford, C. Cooper, E.L. Pichardo, N. Shah, A.B. Peck, M.G. Humphreys-Beher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997) 5767–5771.
- [27] F.J. Dumont, *J. Immunol.* 138 (1987) 4106–4113.
- [28] J. Andre-Schwartz, S.K. Datta, Y. Shoenfeld, D.A. Isenberg, B.D. Stollar, R.S. Schwartz, *Clin. Immunol. Immunopathol.* 31 (1984) 261–271.
- [29] U. Kjorell, Y. Ostberg, *Histopathology* 8 (1984) 991–1011.
- [30] M. Takahashi, Y. Mimura, Y. Hayashi, *Pathobiology* 64 (1996) 269–274.
- [31] S. Steinfeld, A. Maho, C. Chaboteaux, P. Daelemans, R. Pochet, T. Appelboom, R. Kiss, *Lab. Invest.* 80 (2000) 1711–1720.
- [32] T. Fujihara, H. Fujita, K. Tsubota, K. Saito, K. Tsuzaka, T. Abe, T. Takeuchi, *J. Immunol.* 163 (1999) 2226–2235.
- [33] Y. Aikawa, H. Hara, T. Watanabe, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236 (1997) 559–564.
- [34] F. Rubboli, A. Bulfone, S. Bogni, A. Marchitello, M. Zollo, G. Borsani, A. Ballabio, S. Banfi, *Genes Funct.* 1 (1997) 205–213.
- [35] S. Cockcroft, *Bioessays* 20 (1998) 423–432.
- [36] M. Tomita-Yamaguchi, T.J. Santoro, *J. Immunol.* 144 (1990) 3946–3952.
- [37] C.N. Adra, S. Zhu, J.L. Ko, J.C. Guillemot, A.M. Cuervo, H. Kobayashi, T. Horiuchi, J.M. Lelias, J.D. Rowley, B. Lim, *Genomics* 35 (1996) 328–337.
- [38] D. Larrouy, P. Laharrague, G. Carrera, N. Viguier-Bascands, C. Levi-Meyrueis, C. Fleury, C. Pecqueur, M. Nibbelink, M. Andre, L. Casteilla, D. Ricquier, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 235 (1997) 760–764.
- [39] D. Arsenijevic, H. Onuma, C. Pecqueur, S. Rainbault, B.S. Manning, B. Miroux, E. Couplan, M.C. Alves-Guerra, M. Goubern, R. Surwit, F. Bouillaud, D. Richard, S. Collins, D. Ricquier, *Nat. Genet.* 26 (2000) 435–439.
- [40] T. Masaki, H. Yoshimatsu, S. Chiba, S. Hidaka, D. Tajima, T. Kakuma, M. Kurokawa, T. Sakata, *Biochim. Biophys. Acta* 1436 (1999) 585–592.
- [41] O.T. Chan, M.P. Madaio, M.J. Shlomchik, *Immunol. Rev.* 169 (1999) 107–121.

# 壊死性血管炎を伴う溶血性連鎖球菌感染後 反応性関節炎の一例

白岩 秀隆    山口 美樹    佐藤 真紀    堀越 昶  
                 細川 芳文    澤田 滋正

日本大学医学部付属練馬光が丘病院内科

日本大学医学部内科学講座内科1部門

逸見 明博

日本大学医学部付属練馬光が丘病院病理部

佐貫 栄一

日本大学医学部付属練馬光が丘病院放射線科

武井 正美    三田村 巧    大久保陸洋    堀江 孝至

日本大学医学部内科学講座内科1部門

日 大 医 学 雑 誌

第 61 卷    第 7 号

(2002 年 7 月 1 日発行)

## 症例報告

壊死性血管炎を伴う溶血性連鎖球菌感染後  
反応性関節炎の一例白岩 秀隆 山口 美樹 佐藤 真紀 堀越 昶  
細川 芳文 澤田 滋正日本大学医学部付属練馬光が丘病院内科  
日本大学医学部内科学講座内科1部門

逸見 明博

日本大学医学部付属練馬光が丘病院病理部

佐貫 栄一

日本大学医学部付属練馬光が丘病院放射線科

武井 正美 三田村 巧 大久保陸洋 堀江 孝至

日本大学医学部内科学講座内科1部門

## Poststreptococcal Reactive Arthritis with Necrotizing Vasculitis: A Case Report

Hidetaka SHIRAIWA, Miki YAMAGUCHI, Maki SATO, Akira HORIKOSHI,  
Yoshifumi HOSOKAWA, Shigemasa SAWADA, Akihiro HEMMI\*, Eiichi SANUKI\*\*,  
Masami TAKEI\*\*\*, Ko MITAMURA\*\*\*, Takahiro OKUBO\*\*\* and Takashi HORIE\*\*\**Department of Internal Medicine, Nerima Hikarigaoka Nihon University Hospital**\*Department of Pathology, Nerima Hikarigaoka Nihon University Hospital**\*\*Department of Radiology, Nerima Hikarigaoka Nihon University Hospital**\*\*\*First Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine*

A 36-year-old man was admitted to our hospital due to high fever, sore throat, arthralgia, and erythema. The laboratory findings and physical examinations suggested acute pharyngitis, tonsillitis, and adenitis on his neck due to streptococcal infection.

He was treated with antibiotics for 2 weeks but his polyarthritis and erythema was not improved. He was diagnosed with reactive arthritis and necrotizing vasculitis associated with streptococcus based on a high titer of ASO and a skin biopsy. He was given a high dose of prednisolone which resulted in rapid relief from the symptoms. He was discharged from our hospital at 62 days after admission and has remained stable.

**Key words:** streptococcal infection, reactive arthritis, necrotizing vasculitis

溶血性連鎖球菌感染, 反応性関節炎, 壊死性血管炎

(J. Nihon Univ. Med. Ass., 2002; 61 (7): 238-241)

**要旨** 症例は36歳の男性。発熱、咽頭痛、四肢の関節痛、腫脹、紅斑を主訴に来院した。当初、溶血性連鎖球菌(溶連菌)感染による急性咽頭・扁桃周囲炎と考え入院となった。抗生剤を2週間投与したが紅斑および関節炎症状は増悪した。溶連菌感染後の反応性関節炎および壊死性血管炎を疑い、ステロイド経口投与で加療した。その結果、発熱、関節炎、紅斑は改善し、ステロイドを

漸減し中止後も再燃せず経過している。

## はじめに

反応性関節炎は細菌感染後に起こる無菌性の関節炎であり、狭義には性感染症や消化管感染症に続発するライター症候群のことを示している。従来から代表的な原因微生物としては *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia entero-*

*colitica*, *Salmonella typhimurium* などが挙げられているが、近年他の原因菌の存在が示唆されてきている。今回我々は、溶連菌感染で誘発されたと考えられる壊死性血管炎を伴った反応性関節炎の一例を経験したので報告する。

## I. 症 例

症 例：36歳，男性

主 訴：咽頭痛，紅斑，関節の疼痛，腫脹

既往歴：特記すべき事項はない。

家族歴：特記すべき事項はない。

嗜 好：喫煙は15本/日，飲酒は機会飲酒程度であった。

現病歴：2000年3月8日から，高熱，咽頭痛，全身倦怠感が出現したため，近医で抗生剤の内服薬による加療を受けたが軽快しなかった。3月22日から右前腕，左下腿，左膝上に結節状の皮疹と両手関節，両足関節の腫脹が出現し，さらに咽頭痛のため嚥下困難を自覚した。消炎鎮痛剤によっても症状の軽減が得られず，3月24日当院救急外来を受診した。検査の結果，白血球増多を認め，炎症反応が強陽性を認めたため精査加療目的で当院内科入院となった。

入院時現症：身長167cm，体重64.5kg，血圧154/78mmHg，脈拍78/分，体温(腋窩)37.7°C，

皮膚所見：左下腿，大腿，右前腕，両手指 (Fig. 1 参照) に結節状の硬結

身体所見：眼球結膜に充血を認めず，眼瞼結膜に貧血および黄疸を認めなかった。

頭頸部：両側頸部にリンパ節腫脹を数個認め，圧痛をともなっていた。咽頭は発赤し，両側扁桃は発赤，腫大し多量の膿をともなっていた。

胸部理学的所見に異常を認めず腹部所見，神経学的所見においても異常は認めなかった。

入院時検査所見：入院時血液データでは炎症反応が高値を示し，ASOが強陽性を示していた。

尿検査所見：蛋白(1+)，糖(-)，潜血(2+)

血液検査所見：WBC 29600/ $\mu$ l (Neut 90.2%，Eosino 0.2%，Baso 0%，Mono 6.5%，Lympho 3.1%)，RBC 461万/ $\mu$ l，Hb 14.2 g/dl，Ht 43.7%，Plt 39.2万/ $\mu$ l，PT 13.4秒，PT% 53%，INR 1.44，APTT 39.5秒(血清生化学検査所見)：TP 7.8 g/dL，T-Bil 0.82 mg/dl，D-Bil 0.40 mg/dl，AST (GOT) 131 IU/L，ALT (GPT) 17 IU/L，LDH 177 IU/L，ALP 216 IU/L， $\gamma$ -GTP 33 IU/L，ChoE 262 IU/L，CPK 147 IU/L，T-Cho 56 mg/dl，HDL-Cho 147 mg/dl，TG 50 mg/dl，BUN 16.5 mg/dl，Cr 0.82 mg/dl，UA 4.1 mg/dl，Na 142 mEq/L，K 3.8 mEq/L，Cl 97 mEq/L，CRP 25.7 mg/dl，BS 120 mg/dl，ASO 2088 U/ml，ASK 160 U/ml，HbsAg (-)，HCVAb (-)，HIV 1/2抗体 (-)，抗核抗体 (-)，抗 ds-DNA 抗体 6 IU/ml，リウマチ因子



Fig. 1 Erythema on the PIP joint of left index finger. A biopsy was performed from the marking.



Fig. 2 Pathological finding of the erythema.

The small artery was noticed with fibrinoid necrosis, swollen endothelial cells and lymphocytic infiltration which was comparable to necrotizing vasculitis.

4.9，抗 Jo-1 抗体 (-)，P-ANCA (-)，C-ANCA (-)，IgG 1078 mg/dl，IgM 71 mg/dl，C<sub>3</sub> 173 mg/dl，C<sub>4</sub> 3 mg/dl，CH50 40.8 U/ml，ツベルクリン反応 (-)

HLA タイピング：A24 B54 B52

各種培養では起炎菌は同定されなかった。

心電図：異常を認めなかった。

心臓超音波：僧帽弁閉鎖不全症 (I 度)，その他明らかな異常を認めなかった。

腎血管造影検査：腎血管で動脈瘤やその他の異常を認めなかった。

眼底検査：異常を認めなかった。

皮膚生検 (Fig. 2 参照)：真皮から皮下の毛細血管周囲性，細動脈周囲性にリンパ球，好中球および好酸球からなる炎症細胞浸潤を伴った，フィブリノイド壊死巣を認めた。

## II. 臨床経過

本症例は近医で抗生剤の投与がなされていたが，咽頭，扁桃炎が著明であり溶連菌感染が主体と考えられた

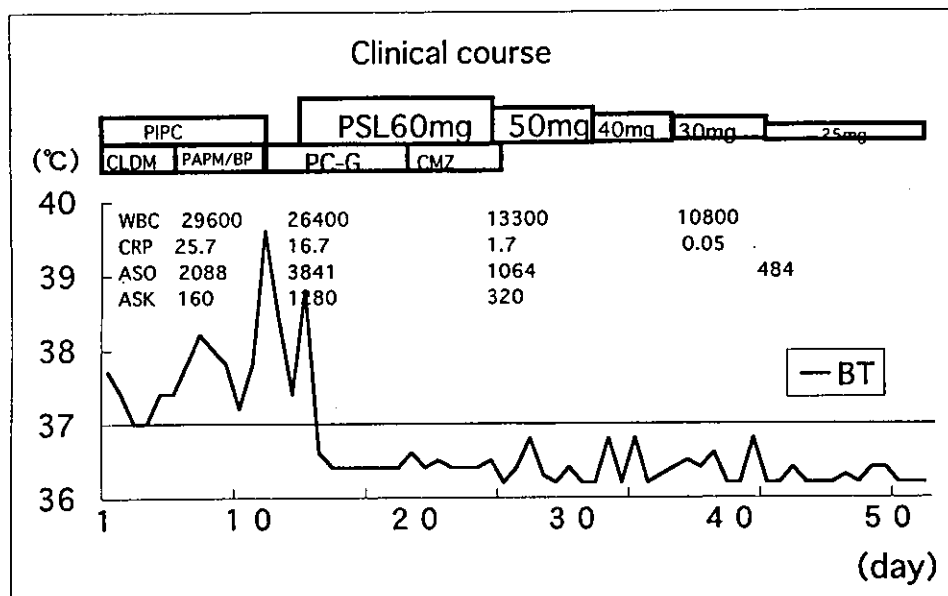


Fig. 3 Clinical course.

ため、入院日より抗生剤の静注 (PIPC 4 g/日 + CLDM 1200 mg/日) による加療が開始された。第4病日頃より咽頭、扁桃の腫脹、発赤、疼痛、および頸部リンパ節腫脹は改善傾向を示したが、37°C台の発熱が持続し、四肢遠位部に結節性紅斑様皮疹ならびに両手関節、両手指関節、両肘関節、両膝関節、両足関節の腫脹、疼痛が顕著化した。なお、咽頭、扁桃の細菌培養から菌は同定されなかった。第7病日より従来のCLDMをPAM/BP 1 g/日に変更し、経過観察したが、発熱および多発性関節炎は改善せず、さらに上下肢の結節性紅斑様皮疹が拡大、融合傾向を示し、両四肢全体が発赤腫脹した。検査所見上ASO値が上昇傾向を示した。単純関節エックス線写真では前記諸関節の骨びらん像は認められなかった。第13病日からはPC-G60万単位/日単独に変更したが症状は改善されなかった。

以上のことから、咽頭、扁桃から溶連菌は分離されなかったが、ASO、ASKが高値であることから、溶連菌感染後の反応性関節炎が考えられた。皮膚の結節性紅斑様皮疹の皮膚生検の結果、壊死性血管炎が認められたため、第16病日より抗生剤併用下にプレドニゾン (PSL) を60 mg/日より開始した。翌日から解熱し全身の多発性関節炎も急速に改善した。

PSLは第30病日から50 mg/日に減量し以降漸減した。その後新たな発熱、関節炎、皮疹の再燃はなく血液検査所見上ASO値も低下した。第51病日にはPSL 25 mg/日まで減量し第62病日に退院となった。現在PSLは中止しているが四肢関節炎および皮疹の再燃は認めていない。

本症例の臨床経過を示す (Fig. 3)。

### III. 考 察

反応性関節炎 (reactive arthritis) は関節外の感染後に起こる無菌性の関節炎と定義され、感染の場が関節腔そのものである感染性関節炎とは明らかに異なったリウマチ性疾患である。本疾患概念は比較的新しく、1969年 Ahovonen によって初めて提唱され、欧米では歴史的な経緯、疫学的な傾向から狭義には性感染症や消化管感染症に続発するライター症候群とはほぼ同義に扱われている。典型的には、関節外における先行感染、通常尿路、生殖器感染症または消化器感染症があり、2-4週間後の経過を経たのちに急激な骨、関節症状を呈すると言われている。また、結膜炎、ぶどう膜炎などの眼症状や皮膚症状などの多様な関節外症状を認める。発症機序については、ライター症候群においてHLA-B27との相関が述べられており、外来細菌の菌体成分と、自己抗原との分子相同性に基づく自己免疫的な機転が想定されている<sup>1)</sup>。代表的な病原微生物としては、従来から *Chlamydia trachomatis*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*<sup>1)</sup> などが挙げられているが、近年、他の原因菌の存在が示唆されてきた。本症例は尿、生殖器感染症あるいは消化管感染症の既往が明らかではなく、扁桃腺における溶連菌感染が関節炎の起因として考えられる症例である。

溶連菌感染後の反応性関節炎<sup>2-5)</sup>に関する報告は我が国でも少数ながら散見され、連鎖球菌感染に伴う反応性関節炎 (post-streptococcal reactive arthritis; PSRA) として認知されるようになった。小林らの自験例 (21症例) ではいずれも難治性の扁桃炎と関節炎が併存し、大半 (18症例) にASO、ASKの高値を認め、咽頭培養において7

例に連鎖球菌が検出されている。またリウマチ因子はいずれも陰性、HLA の検索では 15 症例中 5 例に B39 が確認された<sup>6-8)</sup>。

本症例でも、当初から強度の扁桃腺炎と結節性紅斑を呈し、血清中の ASO, ASK の高値を認めたため、溶連菌感染を考慮し抗生剤で加療したが改善しなかった。最終的にステロイドを投与した。その理由は十分な抗生剤で加療したにもかかわらず、多発性関節炎が増悪し、四肢全体に拡大した紅斑が出現し、その病理組織結果が壊死性血管炎であったためである。高用量のステロイドの経口投与による加療によって、自覚、他覚的兆候ともに著しい改善を認めた。現在も無加療下で四肢関節炎の再燃は生じていない。

小林らは溶連菌感染の病巣である扁桃腺の摘除を 10 例に施行し 3 週間以内に関節炎の改善を得、その後再燃が認められない症例を報告している<sup>9)</sup>。なお、本症例での HLA タイピングの検索では A24, B54, B52 であり、B39 は検出されなかった。

溶連菌感染後の反応性関節炎と鑑別すべき疾患としては関節リウマチ、感染性関節炎、痛風、強直性脊椎炎などの疾患の他に、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、強皮症などの関節炎症状を呈するリウマチ疾患などが考えられる。単純関節エックス線検査で前者はびらん性であり、後者は非びらん性である。また溶連菌感染後に急性の炎症症状を示すリウマチ熱との鑑別が必要である。本症例は、非びらん性の関節炎であるが、抗核抗体、抗 DNA 抗体、抗 Sc1 抗体、抗 Sm 抗体、抗 Jo-1 抗体などの自己抗体は陰性であり、全身性エリテマトーデス、皮膚筋炎、強皮症は否定的である。また、心炎、輪状紅斑、小舞蹈病などリウマチ熱特有の臨床症状を示さない点、また Jones の診断基準<sup>9)</sup>からリウマチ熱は鑑別できる。

結節性紅斑をきたす疾患で鑑別を要するものには、ベーチェット病、サルコイドーシス、潰瘍性大腸炎、クローン病などがある。ただし、本症例では各々の疾患に特有の眼症状(ぶどう膜炎など)や皮膚粘膜症状(口腔内アフタ、外陰潰瘍など)、消化器症状に乏しい点などから鑑別が可能であった。また、紅斑部位の生検で炎症細胞浸潤、フィブリノイド変性等の壊死性血管炎の所見が認められているが、反応性関節炎との直接の関連性については現在のところ不明である。溶連菌感染と結節性多発性動脈炎の関連については小児期における報告例が大半を占め、成人例における報告はまれである。David ら<sup>10)</sup>

は溶連菌感染後に臓器障害を来さない軽度の血管炎である、皮膚型結節性多発性動脈周囲炎 (Cutaneous polyarteritis nodosa) を来した 12 例の患児について報告をしている。報告によれば 8 年に及ぶ長期経過において 12 例中 5 例が、寛解を示したが残りの 7 例が慢性の経過をたどり、再発を繰り返した。また、重篤な臓器障害をきたす全身型の結節性多発性動脈周囲炎に移行した症例もあり、寛解例においても注意深い経過観察が必要だとしている。全身型への移行を疑う場合には腎血管造影などで早期の小動脈瘤を検出することが必要である<sup>10,11)</sup>。本例においても腎血管造影検査を施行したが、小動脈瘤の存在は認めなかった。

本症例は、先行する溶連菌感染が反応性関節炎と結節性多発性動脈周囲炎という個別の異なった病態を発症させたものと考えられた。溶連菌感染は日常診療でしばしば目にする疾患であり、一般的には予後良好な疾患であるが、本例のごとく合併症をきたす可能性があるので注意を要すると思われる。

#### 文 献

- 1) Hellmann DB, Stone JH. Arthritis and musculo-skeletal disorders. In: Lawrence MTjr, McPhee SJ, Papadakis, editor. Current medical diagnosis and treatment. 39th: 2000; 807-859.
- 2) Chester WF. The role of streptococcus in poststreptococcal reactive arthritis and childhood polyarthritis-nodosa. *J Rheum* 1991; 18: 14-19.
- 3) Ahmed S, Ayoub EM. Poststreptococcal reactive arthritis. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 1081-1082.
- 4) Deighton C. Beta haemolytic streptococci and musculoskeletal sepsis in adults. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 483-487.
- 5) Ayoub EM, Majeed HA. Poststreptococcal reactive arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 306-310.
- 6) Iglesias-Gamarra A, Mendez EA, Cuellar ML. Poststreptococcal reactive arthritis in adults: long-term follow-up. *Am J Med Sci* 2001; 321: 173-177.
- 7) 小林茂人. 反応性関節炎—最近の知見. 日本内科学会雑誌, 1998; 87: 158-164.
- 7) 小林茂人. 反応性関節炎 (reactive arthritis). リウマチ, 1997; 37: 504-513.
- 8) Kobayashi S, Tamura N, Akimoto T, et al. Reactive arthritis induced by tonsillitis. *Acta Otol* 1996; 523: 206-211.
- 9) Tadzynski LA, Ryan ME. Diagnosis of rheumatic fever. Guide to the criteria and manifestations. *Postgrad Med* 1986; 79: 295-300
- 10) David J, Ansell BM, Woo P. Polyarteritis nodosa associated with streptococcus. *Arch Dis Child* 1993; 69: 685-688.
- 11) 小西倫子, 服部益治, 大島圭介, 他. 溶連菌感染に伴う皮膚型結節性動脈周囲炎の一例. 小児科臨床, 1996; 49: 42-44.



## 特集

## リウマチ性疾患とウイルス

## Epstein-Barrウイルスと慢性関節リウマチ\*

武井正美\*\*  
三田村 巧\*\*  
大久保陸洋\*\*\*  
澤田滋正\*\*\*

**Key Words** : rheumatoid arthritis, Epstein-Barr virus, synovial cell, signaling lymphocytic-activation molecule associated protein (SAP), mRNA

## はじめに

分子生物学の目覚ましい発展に伴い、RAのウイルス原因説に対する新たな検討が試みられ、いままで証明できなかったものが陽性所見として再度光があてられてきている。代表的なものは、Epstein-Barr virus (EBV), HTLV-1, parvovirus B19などがあげられる。この稿ではRAとEBVの関係を①EBVのRA病態への関与の可能性、②RAの病変部である関節滑膜での存在の証明、③EBVに対する宿主ディフェンスの異常の可能性に分け最近の知見を含めて述べる。

## RA病態におけるEBV関与説

EBVは、伝染性単核球症をひき起こし、初感染後ホストに潜在化することが知られている。1978年には、TanらによりRA患者末梢血中にEBV感染細胞核成分に対する抗体(RANA: RA nuclear antigen)が発見され、EBVとRAの関係が注目された<sup>1)</sup>。RANA抗体が認識する主なエピトープは、EBNA (EBV determined nuclear antigen)-1のglycine-alanine構造であった<sup>2)-4)</sup>。RA滑膜には、

EBNA-1と一部構造が似ている蛋白が報告されており<sup>5)6)</sup> molecular-mimicry (分子相同性)の機序が病因として重要な働きをしている可能性がある。さらには、RA疾患感受性ハプロタイプであるHLA-DR4, DR1のβ1鎖超可変領域3のアミノ酸QKRAA, QRRAAとEBVのgp110の一部に相同性のある部分があることが報告されshared epitopeとして知られ<sup>6)</sup>、RAの抗原提示の際の免疫機構にEBVが何らかの影響を及ぼす可能性も示されている。

EBV関連蛋白のなかにはlatent membrane protein-1 (LMP-1)のような多彩な生物学的活性を示すものが知られており核内蛋白の転写活性化因子のNF-κB (nuclear factor-κB)の活性を上昇させBcl-2やA20の産生を増加させ、アポトーシスを抑制する<sup>7)8)</sup>。また、ヒトのケラチノサイト類やラットの線維芽細胞を悪性転化する<sup>9)10)</sup>。近年、抗TNFα抗体がRAに使われ劇的に関節炎に効果があることが経験されている。NF-κBはTNFαの産生を増加させることも知られており、RA滑膜の腫瘍性増殖や疾患の修飾にこのような機能がならかの影響を及ぼしている可能性もある。

## RA関節滑膜細胞に存在するEBV

当初はEBVのDNAはSouthern-blot法では検出することはできないと報告された<sup>11)</sup>。われわれはEBVとRAの関連を明らかにするため、polymerase

\* Epstein-Barr virus could be a cause of rheumatoid arthritis.

\*\* Masami TAKEI, M.D., Ko MITAMURA, M.D., Takahiro OOKUBO, M.D. & Shigemasa SAWADA, M.D.: 日本大学医学部第一内科学教室〔〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1〕; First Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine, Tokyo 173-8610, JAPAN

\*\*\* 日本大学練馬光が丘病院内科

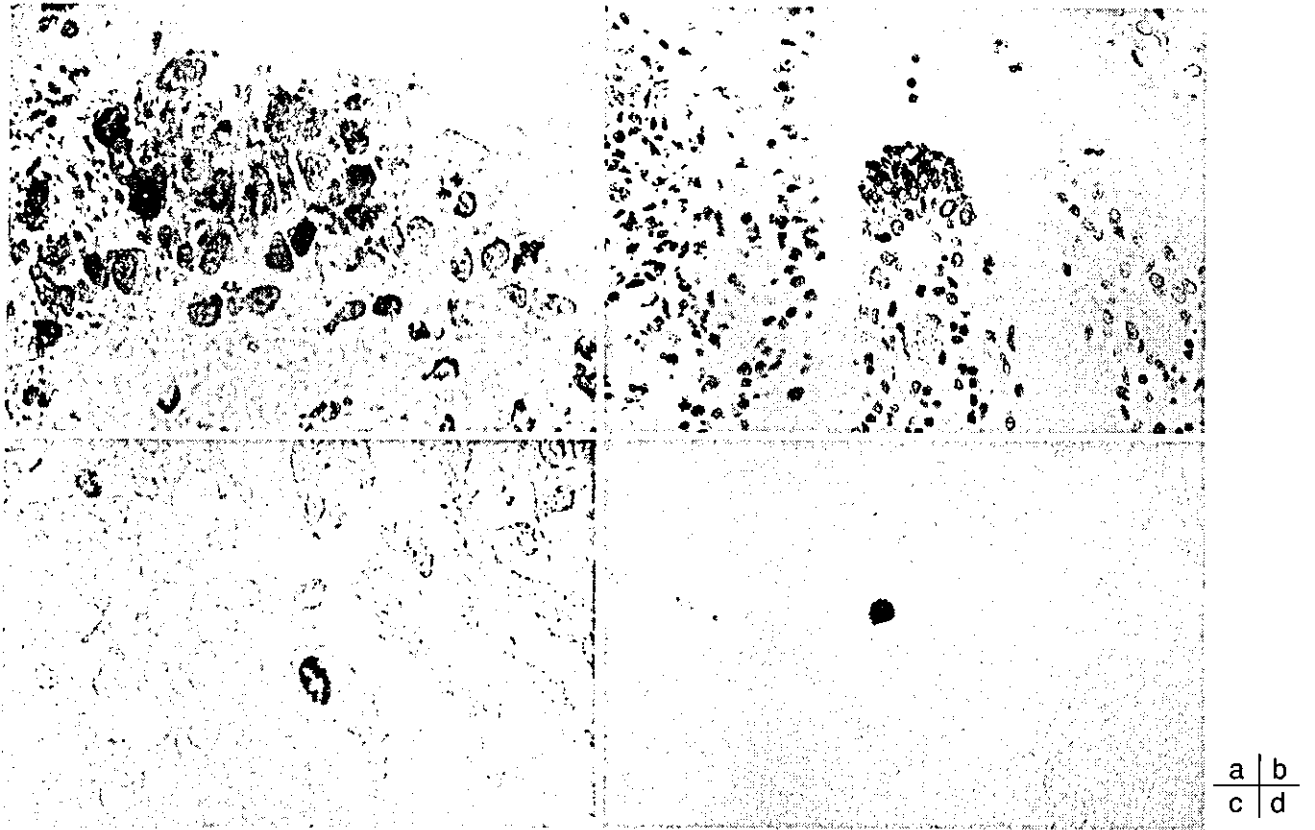


図 1

- 慢性関節リウマチ患者滑膜表層細胞に発現したEBER-1. *in situ*ハイブリダイゼーション法により検出した. センスプローブでは陽性シグナルは認めなかった. 酵素はアルカリホスファターゼを使用した.
- 慢性関節リウマチ滑膜表層細胞のLMP-1の発現. LMP-1, 抗LMP-1単クローン性抗体は免疫グロブリンのアイソタイプの違う2種類を使用し(IgG1, IgG2a)両者とも陽性であった. EBER-1陽性部位と同じ部位, 患者に発現していた. EBNA-2は陰性であった. 酵素はペルオキシダーゼを使用した.
- RA滑膜縦毛状に増殖した部位に認められる大型の細胞に*in situ*ハイブリダイゼーション法によりEBER-1陽性シグナルが核に一致して認められる.
- RA滑膜組織に浸潤したリンパ球に*in situ*ハイブリダイゼーション法によりEBER-1陽性シグナルが核に一致して認められる.

chain reaction (PCR) と *in situ* hybridization 法を用いて, RAの滑膜にEBVが存在するか否かを検討した. 患者末梢血より抽出したDNAを用いPCR法によりEBV DNAの検出を行った. RA, SLE, シェーグレン症候群, 正常者ともほぼ全例が陽性であり, そのコピー数にも差を認めなかった. 末梢単核球と同様にして滑膜より抽出したDNAを用いPCR法で検討をしたところRA 7例中6例, 変形性関節炎3例中2例にEBV DNAが検出され, 1例のSLEには認めなかった. この結果は最近報告された2つの研究成果により確認された<sup>12)13)</sup>. PCR法で検出できたとしても浸潤しているリンパ球に存在している可能性があり病態との関連を類推することができなかったため, RA滑膜を使用しEBV encoded small RNA (EBER)-1を *in situ*

hybridization 法により検出を試みた. 変形性関節症の滑膜の検討では全例陰性であったがRAの一部の症例の滑膜細胞が絨毛上に増殖のみられる先端のところに陽性であった(図1a, b). 組織型ではリンパ球, 形質細胞浸潤の多いtypeにEBER-1陽性の頻度が高い傾向があった. また, EBV陽性の細胞は主に浸潤しているリンパ球と大型の核を有し, 表層細胞の増殖している部位にある比較的大型の細胞の核に存在している(図1c, d). EBV関連抗原のlatent membrane protein-1 (LMP-1)の発現は同一患者のEBER-1が発現していた場所に一致し, EBER陽性8例中3例で陽性であり陰性例5例はすべてLMP-1の発現は認めなかった. CD21, EBNA-2の発現は今回検討したすべての症例で同部位には認めなかった. 抗LMP-1

単クローン性抗体はイムノグロブリンのアイソタイプ異なる2種類のものを使用し同じ結果であった<sup>14)</sup>。EBVの滑膜中での存在部位が特定でき、滑膜細胞の絨毛状増殖を示す先端の部位にEBVの存在を認めた。この結果は、これまで数多くの研究でEBVとRAとの関連が間接的に報告されていたが直接的に証明がされておらず、RAの病因論で大きな疑問となっていた問題に明快な示唆を与える所見となった。北大のTakedaらもRA滑膜細胞でのEBER-1やEBV DNAの*in situ* hybridization法での発現を報告し<sup>15)</sup>、SaalらはHLA-DRB1\*0401, 0404, 0405, 0408を有するRAが高率にEBV DNAやEBER-1が検出されることをRT-PCRやPCR法で報告し、その危険度が41倍であると正常者との比較で推定した<sup>13)</sup>。兵庫医大の岩田、立石らはRA軟骨下骨部の単核球にEBVの存在を*in situ* hybridization法、免疫組織染色でのLMP-1の発現滑膜細胞の存在を証明した(第43回日本リウマチ学会総会F84-4, 1999)。

### RA関節滑膜細胞へのEBV感染成立機序

EBVのレセプターとしてはCD21(C3dレセプター)が知られているがEBV陽性滑膜表層細胞は連続切片の組織染色法ではCD21陰性であり未知の感染経路を使用している可能性がある。近年注目されているEBV陽性上咽頭癌、胃癌細胞もCD21陰性であり、その感染機序は明らかではないが、感染B細胞との細胞融合説やCD21のリガンドであるウイルスのエンベロープ蛋白(gp350/220)に対するpolymeric IgA抗体を介し上皮細胞に感染しうるとの報告もある。また、絨毛上に増殖のみられる先端部位の細胞の由来は不明であり、単球由来の末梢からリクルートされてきた細胞との考えもある。RA滑膜組織より得られた線維芽細胞株にEBVが陽性であったとの報告<sup>16)</sup>や帝京大の広畑らによるRA骨髄細胞にもEBVが関与している可能性も報告された<sup>17)</sup>。すなわち、RAまたはOA骨髄由来CD34陽性細胞を分離し、EBV陰性患者B細胞と共存培養することでRA骨髄由来のCD34細胞共存培養の系よりEBV陽性細胞株を樹立し、OAのものからは得られなかったと報告した。われわれは広畑らの発見した現象

をウイルス株にて変異が存在することが知られているEBVのEBNA3cをコードする部位のDNA配列を彼らが樹立したB細胞株と患者唾液由来のEBVも株を決定することにより塩基の変異や繰り返し構造が一つの塩基変異を除いて完全に一致したことを見出し、RA骨髄のある微小環境がEBVの感染に強く関与する可能性を見出した(第44回日本リウマチ学会総会シンポジウム, 2000)。この発見は、EBVが滑膜増殖部で感染を受けたのではなく、骨髄で感染した非リンパ球系の細胞がリクルートされ絨毛上に増殖している可能性を示唆している。Blashketらは滑膜細胞の単層の表層細胞の直下にEBV陽性の細胞が集簇していることをEBER-1/2の*in situ* hybridization法で報告した<sup>18)</sup>。この発見は前述した仮説を裏付ける可能性があり滑膜の多層性の絨毛状に増殖する過程を捉えているとも考えられる。また、KoideらはRA滑膜からEBV陽性線維芽細胞株を樹立した<sup>16)</sup>。しかし今のところ、滑膜の線維芽細胞にEBVの存在は*in situ* hybridization法では発見されていない。

### RAでのEBVに対するホストディフェンスの異常

図1に示すようにわれわれの症例ではEBVはRA滑膜の絨毛状に増殖した先端の滑膜表層細胞に認められた。この部位はRA滑膜が腫瘍状にもっとも増殖を起こしている場所と推定できる。われわれの得た所見ではEBVのEBER-1, LMP-1が同部位に発現しておりEBNA2は陰性であった。LMP-1は細胞障害性T細胞の標的分子であり、通常免疫機能を有していれば個体から排除されてしまう。上咽頭癌のようにLMP-1に変異があり免疫監視機構から逃れている可能性も報告されている<sup>19)</sup>。また、RAのEBV特異的CTL活性が低いとの報告もあり<sup>20)</sup>、RA滑膜でこのような細胞の存在を許している可能性もある。この抑制機構の異常の原因は不明であった。われわれは協和発酵東京研究所の石渡博士らとの共同研究でEBV関連疾患としても知られているIgA腎症の末梢白血球のRNAを用いたfluorescein differential display法による解析で偶然にこの遺伝子を発見し全cDNAのsequenceを行っていた(国際公開番

a	b
c	d

表1 SAP mRNA expression in peripheral leukocytes in other patients

	SAP/GAPDH	n	p value
	mean ± SD (range)		
SLE	0.0195 ± 0.020 (0.0021-0.0714)	11	ns
CN	0.0253 ± 0.021 (0.0071-0.0857)	17	ns
RA	0.0058 ± 0.052 (0.00003-0.0162)	21	0.0007
Normal	0.0239 ± 0.021 (0.0015-0.0806)	13	

CN : chronic nephritis

p value : sample vs normal student-t test

号 : WO98-24899, H8, 12, 5). 計らずもこの遺伝子が1998年12月にNatureでSayoらの報告した小児期にEBVの致死感染症を起こすことで知られているDunchan病(X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP)原因遺伝子とまったく同一のものであった<sup>21)</sup>. XLPではsignaling lymphocytic-activation molecule (SLAM) associated protein (SAP)のcDNAの一部にmutationかdeletionが存在しSAPの機能が働かずEBVに対する特異的抑制性T細胞の誘導ができないと考えられた. SAP遺伝子はX染色体の短腕25(Xq25)に位置し, Src homology 2 (SH2)ドメインを1個と26アミノ酸からなる短い蛋白で発見当時はシグナル伝達に関与する蛋白であるとの予想はしていたがその機能に関しては不明であった. 機能としてはその名の示すごとくSLAMの細胞内ドメインと相互作用を及ぼしT細胞の活性化を調節している. SLAMの細胞内ドメインにあるtyrosineのリン酸化されたところに脱リン酸化酵素のSH-2がSAPとともに競合的に働きSH-2による抑制性のシグナルを調節し適切にT細胞を活性化する. この経路でSAPに異常があり機能しなかったり, その発現が少なかったりするとT細胞の活性化が阻害されEBVの感染制御に異常をきたすと考えられている. SLAMはEBV感染細胞に強く発現していることが知られており, RAの滑膜組織中のT細胞にもやはり発現の亢進が報告されている<sup>22)</sup>. SLAMはSLAM同士で認識し, 細胞内にシグナルを伝達することが知られており, SAP蛋白の異常がEBV特異的に感染制御に関与する原因となっている可能性が考えられている. われわれは, SAP mRNAの発現の定量法をPE-ABI 7700を使用し, real time PCR法で確立した. RA患者末梢白

血球のSAP mRNAの定量でその発現が低いことが分かった(表1). SAPはそのほとんどがT細胞に発現しているがRaji B細胞株やNK細胞でも存在することがわかっている. われわれはRA末梢血T細胞を分離してSAP mRNAの定量を行った. その結果SAP mRNAの発現は正常者に比較し有意に低下を示した. 次に, SAP cDNAにXLPのような変異が存在する可能性を考え, 5例のRA患者末梢白血球からmRNAを抽出し, そのcDNAの全長配列を決定した. この5例のSAP cDNAにはまったく変異を認めなかった. 以上のことから, RAでEBVに対する感染防御機構が異常を起こす原因として, SAP分子の機能異常がその原因の一つとして関与する可能性のあることが判明した<sup>23)</sup>. この異常の原因についてはまだ不明だが, サイトカインによる調節異常や, プロモーター領域に変異がある可能性もあり, 現在検討を行っている. 最近, EBV感染細胞に対するNK細胞の活性にSAP分子とNK細胞のシグナル伝達に関与する2B4分子がSLAMでのシグナル伝達と同様に関与する可能性が次々に報告されてきており<sup>24)25)</sup>, SAP mRNAの発現低下がEBV感染細胞に対する細胞傷害性T細胞とNK細胞の活性化の障害をRAで引き起こしている可能性が考えられる.

### おわりに

RAとEBVに関する報告が再び多くなされている. その報告にはRAとEBVの関連を否定的に捉えるものと, 積極的に捉えられるものがある. ほとんどの報告はRA滑膜にPCR, RT-PCR, *in situ* hybridization, 免疫組織染色によって存在は肯定しており, その事実は確かとなってきているものと考ええる. それぞれの違いは滑膜のどの細胞が主体なのかということである. *in situ* hybridization法での報告ではリンパ球以外の細胞にEBVが存在することは大勢となっていると考えられるが, 滑膜細胞の由来がまだ議論されている段階では, 明確な答えが導かれるのには, もう少し時間が必要と考える. 免疫機構の解明により, RAの新しい治療として, TNFやIL6レセプターに対する抗体や可溶性レセプターなどの生物学的製剤が開発され治療効果も著しい. しかし, これらの製剤はやはり対症療法である. RAの原因

を追求することは根治的な治療法の確立にとって重要なものと考ええる。

これらの研究は日本大学微生物学教室藤原成悦専任講師，同整形外科教室龍順之助教授，大幸俊三助教授，日本医大リウマチ関節疾患科吉野楨一教授，協和発酵東京研究所との共同研究で行った。

## 文 献

- 1) Alspaugh, M.A., Jensen, F.C., Rabin, H., et al.: Lymphocyte transformed by Epstein-Barr virus: induction of nuclear antigen reactive with antibody in rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.*, 147 : 1018~1027, 1978.
- 2) Billings, P.B., Hoch, S.O., White, P.J., et al.: Antibodies to the Epstein-Barr virus nuclear antigen and to rheumatoid arthritis nuclear antigen identify the same polypeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80 : 7104~7108, 1983.
- 3) Rhodes, G., Carson, D.A., Valbracht, J., et al.: Human immune response to synthetic peptides from the Epstein-Barr virus nuclear antigen. *J. Immunol.*, 134 : 211~216, 1985.
- 4) Rumpold, H., Rhodes, G.H., Bloch, P.L., et al.: The glycine-alanine repeating region is the major epitope of the Epstein-Barr nuclear antigen-1 (EBNA-1). *J. Immunol.*, 138 : 593~599, 1987.
- 5) Fox, R., Sportsman, R., Rhodes, G., et al.: Rheumatoid arthritis synovial membrane contains a 62000-molecular-weight protein that shares an antigenic epitope with the Epstein Barr virus encoded associated nuclear antigen. *J. Clin. Inv.*, 77 : 1539~1547, 1986.
- 6) Roudier, J., Rhodes, G., Peterson, J., et al.: The Epstein-Barr virus glycoprotein gp110, a molecular link between HLA DR4, HLA DR1, and rheumatoid arthritis. *Scand. J. Immunol.*, 27 : 367~371, 1988.
- 7) Hammarskjold, M.-L. & Simurda M.C.: Epstein-Barr virus latent membrane protein transactivates the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat through induction of NF- $\kappa$ B activity. *J. Virol.*, 66 : 6496~6501, 1992.
- 8) Henderson, S., Rowe, M., Gregory, C., et al.: Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed cell death. *Cell*, 65 : 1107~1115, 1991.
- 9) Wang, D., Liebowitz, D. & Kieff, E.: An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. *Cell*, 43 : 831~840, 1985.
- 10) Fahaeus, R., Rymo, L. & Rhim, J.S.: Morphological transformation of human keratinocytes expressing the LMP gene of Epstein-Barr virus. *Nature*, 345 : 447~449, 1990.
- 11) Fox, R.I., Chilton, T., Rhodes, G., et al.: Lack of reactivity of rheumatoid arthritis synovial membrane DNA with cloned Epstein-Barr virus DNA probes. *J. Immunol.*, 137 : 498~501, 1986.
- 12) Edinger, J.W., Bonneville, M., Scotet, E., et al.: EBV gene expression not altered in rheumatoid synovia despite the presence of EBV antigen-specific T cell clones. *J. Immunol.*, 162 : 3694~3701, 1999.
- 13) Saal, J.G., Krimmel, M., Steidle, M., et al.: Epstein-Barr virus infection increases the risk of rheumatoid arthritis in individuals with the shared HLA-DR4 epitope. *Arthritis Rheum.*, 42 : 1485~1496, 1999.
- 14) Takei, M., Mitamura, K., Fujiwara, N., et al.: Detection of Epstein-Barr virus-encoded small RNA 1 and latent membrane protein 1 in synovial lining cells from rheumatoid arthritis patients. *Int. Immunol.*, 9 : 739~743, 1997.
- 15) Takeda, T., Mizugaki, Y., Matsubara, L., et al.: Lytic Epstein-Barr virus infection in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 43 : 1218~1225, 2000.
- 16) Koide, J., Takada, K., Sugiura, M., et al.: Spontaneous establishment of an Epstein-Barr virus-infected fibroblast line from the synovial tissue of a rheumatoid arthritis patient. *J. Virol.*, 71 : 2478~2481, 1990.
- 17) Hirohata, S., Yanagida, T., Nakamura, H., et al.: Bone marrow CD34<sup>+</sup> progenitor cells from rheumatoid arthritis patients support spontaneous transformation of peripheral blood B cells from healthy individuals. *Rheum. Int.*, 19 : 153~159, 2000.

- 18) Blaschke, S., Schwarz, G., Moneke, D., et al.: Epstein-Barr virus infection in peripheral blood mononuclear cells, synovial fluid cells, and synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 27 : 866~873, 2000.
- 19) Natkunam, Y., Elenitoba-Johnson, K.S., Kingma, D.W., et al.: Epstein-Barr virus strain type and latent membrane protein 1 gene deletions in lymphomas in patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.*, 40 : 1152~1156, 1997.
- 20) Tosato, G., Steinberg, A.D. & Blaese, R.M.: Defective EBV-specific suppressor T-cell function in rheumatoid arthritis. *N. Eng. J. Med.*, 19 : 1238~1243, 1981.
- 21) Sayos, J., Wu, C., Morra, M., et al.: The X-linked lymphoproliferative-disease gene product SAP regulates signals induced through the co-receptor SLAM. *Nature*, 395 : 462~469, 1998.
- 22) Isomaki, P., Aversa, G., Cocks, B.G., et al.: Increased expression of signaling lymphocytic activation molecule in patients with rheumatoid arthritis and its role in the regulation of cytokine production in rheumatoid synovium. *J. Immunol.*, 159 : 2986~2993, 1997.
- 23) Takei, M., Mitamura, K., Ishiwata, T., et al.: Decreased expression of signaling lymphocytic-activation molecule associated protein (SAP) transcripts in T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Int. Immunol.*, 13 : 559~565, 2001.
- 24) Tangye, S.G., Lazetic, S., Woollatt, E., et al.: Cutting edge : human 2B4, an activating NK cell receptor, recruits the protein tyrosine phosphatase SHP-2 and the adaptor signaling protein SAP. *J. Immunol.*, 162 : 6981~6985, 1999.
- 25) Brown, M.H., Boles, K., van der Merwe, P.A., et al.: 2B4, the natural killer and T cell immunoglobulin superfamily surface protein, is a ligand for CD48. *J. Exp. Med.*, 188 : 2083~2090, 1998.

\* \* \*

## A. 総論—IV. 検査の意義と検査成績の読み方・考え方

## リウマチ性疾患における 免疫学的検査 サイトカイン\*

Key words: Cytokines, Th1, Th2, Clinical use

武井正美\*\*  
三田村 巧\*\*  
澤田滋正\*\*<sup>1)</sup>

### はじめに

多くのサイトカインが臨床レベルでも測定することが可能になり、その分子の性状や分子生物学的性格などの詳細な情報が明らかとなり、リウマチ系疾患の病態への関与が推測されている。近年では、サイトカインに対する抗体やレセプター、遺伝子導入などが実際に患者に投与が開始されその有用性が報告されている。現在サイトカインの種類は数多く、この稿では実際に臨床の場で測定される機会が多いか、これから多くなると予想されるものを中心に解説する。

### サイトカインとリウマチ疾患

サイトカインとリウマチ疾患の病態を考えるときに、サイトカインの産生の種類でCD4陽性T細胞を分け(Th1, Th2など)その特徴で病態がどちらに傾いているかを検討する考えがある(図1)。Th1はIL-2, IFN $\gamma$ , IL-12, IL-18やTNF- $\beta$ を主に産生し、細胞性免疫を調整していると考えられ、Th2はIL-4, IL-5, IL-6, IL-10, やIL-13を産生し液性免疫に主に働いていると推測されている。Th1優位に病変を形成するものとしては、臓器特異的な自己免疫疾患があり、Th2優位になっているものは全身性の自己免疫疾患と考えられてい

る。しかし、マウスと違って単純にヒトの場合は分けることは難しく、また、病期によってもその優位性が異なっている可能性も指摘されている<sup>1)</sup>。サイトカインの血清や体液中の濃度の測定法で主なものはenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)で近年その手技の煩雑さから放射性同位元素を使用したradioimmunoassay (RIA)や反応細胞を使用した生物学的測定法は余り行なわれていない。最近ではそのmRNAを測定するRT-PCR法や*in situ* hybridization法やflow cytometryにより細胞内のサイトカインを測定する<sup>2)</sup>。

### Th1サイトカイン検査の意義と読み方

#### 1. IL-2

IL-2は主にCD4陽性T細胞が産生するが、トランスフォームしたB細胞、白血病細胞、LAK細胞(lymphokine-activated killer cells), NK細胞も産生する。遺伝子座はヒト染色体4q26-28にあり、133アミノ酸よりなる分子量15.4kDaの分子である。IL-2レセプターは3種類知られていて、IL-2R $\alpha$ (TAC抗原:p55),  $\beta$ (CD122:p75),  $\gamma$ である。その内42kDaのTAC抗原の分解産物はsoluble IL-2 receptor (sIL-2R)とよばれ臨床の場でも悪性リンパ腫の診断や治療効果の目安に使われている。IL-2のトランスジェニックマウスはマクロファー

\* Cytokines.

\*\* Masami TAKEI, M.D., Ko MITAMURA, M.D. & Shigemasa SAWADA, M.D.: 日本大学医学部第一内科(〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1); First Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine, Tokyo 173-8610, JAPAN

<sup>1)</sup> 現 日本大学医学部附属練馬光が丘病院内科

ジの炎症性反応で脾臓が破壊され、IL-2ノックアウトマウスは潰瘍性大腸炎様病変を呈する。IL-2の臨床応用は主に抗腫瘍活性で養子免疫療法、LAC細胞、TIL細胞(tumor infiltrating lymphocytes)療法、腫瘍内投与療法、遺伝子導入療法などで使用される。IL-2が関与する病態としては慢性関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)以外にもHodgkin病、Graft-versus-Host反応、多発性硬化症、type-1糖尿病、ライ病、AIDS、重症熱傷などが知られているが、治療やその病態や病勢についての臨床応用はまだ不明な点が多く一般的でない。

2. IFN $\gamma$

IFN $\gamma$ は活性化されたT細胞、NK細胞によって産生され、その分子量は主に20と25kDaの2種類が糖鎖の修飾の相違で存在し、dimer, tetramerとなって40~60kDaで存在している。IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ と違って酸に不安定で、遺伝子座は12q24.1にある。活性化ビタミンD<sub>3</sub>やステロイド、サイクロスポリンAで合成が抑制される。抗ウイルス作用は他のIFNと同様だが、種々の細胞の増殖抑制作用などの免疫調節作用が他のIFNと違って主作用としてもつ。そのトランスジェニックマウスは自己免疫性脾炎を起こすが、ノックアウトマウスは病原微生物のいない環境下では正常に発育する。

臨床ではC型肝炎などの抗ウイルス薬として使用し得るがRAに対しての使用も試みられており、マクロファージの活性化に作用し、関節痛や臨床検査所見の改善がみられ、副腎ステロイド薬の減量が可能であると報告されている<sup>3)4)</sup>。

3. IL-12

IL-12は主に末梢リンパ球により産生され、B細胞が主な産生細胞である。分子量は70kDaで40kDaと35kDaのサブユニットでS-S結合し構成されている。P40はIL-6レセプターの細胞外ドメインと相同性を持ち、p35もIL-6と相同性を

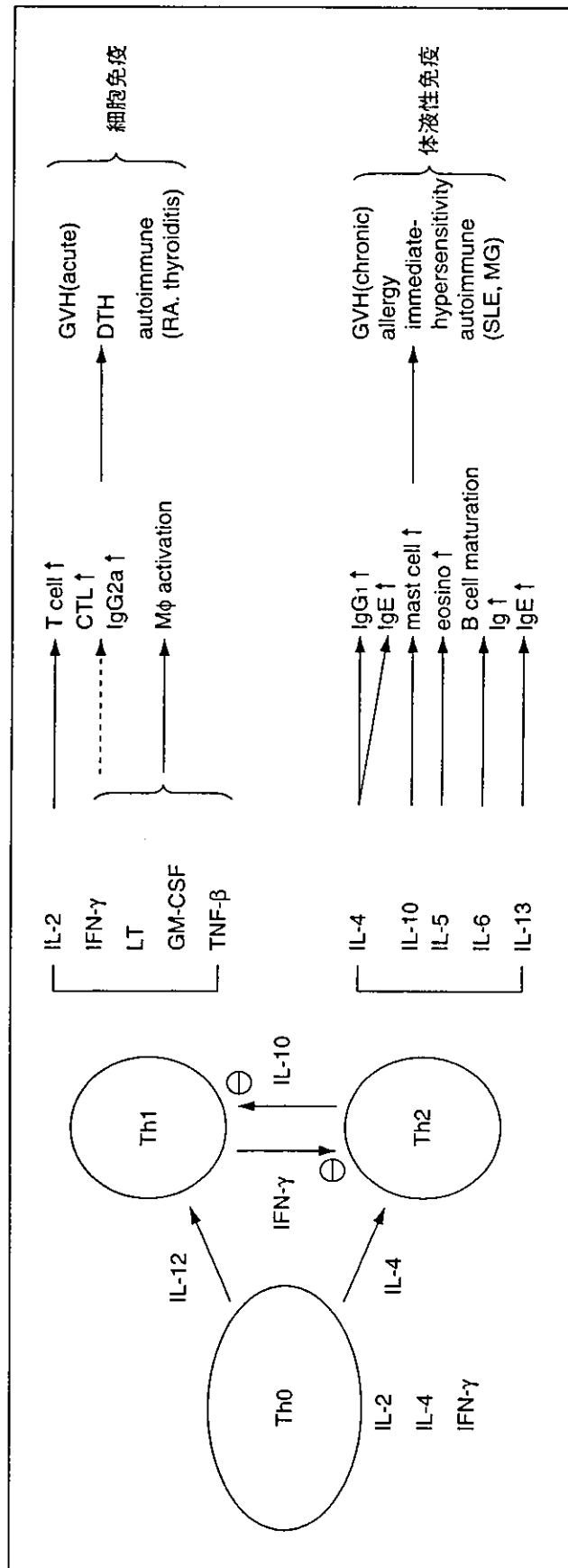


図1 CD4ヘルパーT細胞(Th1/Th2)とサイトカイン  
CTL : cytotoxic T lymphocyte, Mφ : macrophage, MG = myasthenia gravis, ⊖抑制作用



有し, Epstein-Barrウイルスとの関連も指摘されている。P40の遺伝子座は5q31-q33でp35は3p12-q13.2でそれぞれ独立して調節される。Th1, Th2に分化していない前駆細胞であるTh0細胞をTh1への分化にIL-12が関与し, CD56陽性NK細胞を活性化し, allogenicな細胞傷害性T細胞を誘導する。IL-10はIL-12を抑制する。また, IL-12がIL-4やIL-5, IL-10などのTh2型サイトカインの産生を抑制している。また, IgEの産生を抑制したり骨髓細胞の増殖分化を増強するとの報告もある。IL-12のノックアウトマウスではエンドトキシン投与後のIFN $\gamma$ の産生は不完全に抑えられ, 抗原刺激によるIL-4の産生は増強されたが, IL-2, IL-10の産生は正常であった。

臨床応用ではIL-12は養子免疫療法時のIL-2の必要量を減じる事ができる可能性があり, hairy細胞白血病ではIL-12がNK細胞活性を増強する<sup>5)</sup>。IFN $\gamma$ でひき起こされる腫瘍の血管新生をIFN $\gamma$ 産生を低下させることで抑制し, 腫瘍の増殖を抑える<sup>6)</sup>。

#### 4. TNF $\beta$

活性化されたT細胞が主な産生細胞で, 線維芽細胞, 血管内皮細胞, アストロサイトから産生される。その遺伝子座は6p23-6q12にあり, レセプターはTNF $\alpha$ と同じものを利用する。その作用は線維芽細胞に作用し, プロスタグランディンE $_2$ , IL-1, GM-CSF, G-CSFの産生を誘導する。臨床応用はまだ初期の段階である。

### Th2サイトカイン検査の意義と読み方

#### 1. IL-4

IL-4はCD4陽性T細胞のTh2細胞が産生をし, B細胞の増殖分化, MHCクラスII分子やCD23の発現を促進する。また, Hodgkin病のオートクライン増殖因子と考えられている。分子量は20kDaで遺伝子座は5q23-31にある。IL-4トランスジェニックマウスではIL-5, IL-6, IFN $\gamma$ , IL-4レセプターのmRNAの発現は増強しているが, IL-1, IL-2, IL-3, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ のmRNAの発現は影響を受けなかった。このマウスのB細胞は活性化されMHCクラスIIの発現が強くなり, IgG1とIgEが高く, IgG2a, IgG2b, IgG3は低下していた。また, IL-4ノックアウトマウスではTh2サイトカインの産生が著明

に低下していた。

臨床応用としてはその免疫調節作用を利用した自己免疫疾患の治療に重要な働きをする可能性はあるが, 現時点では不明であり, 大腸癌や乳癌の増殖を抑制することは報告されている<sup>7)</sup>。

#### 2. IL-5

T細胞により産生され, homodimerで活性を持つ。種々の糖鎖の修飾により分子量はさまざまである。遺伝子座は5q23-31でGM-CSF, M-CSF, IL-3, IL-4の近傍に位置する。好酸球の増殖分化に関与し, 胸腺細胞からの細胞傷害性T細胞の誘導を促進する。IL-5トランスジェニックマウスは肺や腸管に好酸球の浸潤は認めるが, 臓器傷害の所見は無い。臨床応用はまだ確定していないが, IL-5に対する抗体を利用し, 好酸球の臓器傷害は治療できる可能性がある<sup>8)</sup>。

#### 3. IL-6

産生細胞は単球, 骨芽球, T, B細胞, 好酸球, 平滑筋細胞, 軟骨細胞, 線維芽細胞, グリア細胞, ケラチノサイトなど多岐に渡る。遺伝子座は7p21-p14にあり, 分子量は糖鎖の付加, リン酸化により, 21.5~28kDaと幅がある。血漿中では $\alpha$ 2マクログロブリンと結合し42~45kDaとなり分解されにくくなる。レセプターは80kDaとgp130が同定され, 後者はIL-11, LIFなど他のサイトカインと共有している。gp130への経路はJAK (Janus kinase)を活性化し, シグナル伝達を行う。生物学的機能はB細胞の免疫グロブリンの産生と形質細胞の増殖に関与する。また, 抗原提示細胞から分泌されたIL-6はナイーブT細胞からTh2細胞への分化を促す。肝細胞に作用し, CRPなどの急性期反応蛋白を誘導する。末梢神経の再生や破骨細胞による骨吸収を促進する。トランスジェニックマウスはIgG1が増加し, 形質細胞腫を認める。腎メサンギウム細胞の増殖や骨髓巨核球の増加を認める。ノックアウトマウスでは, 発生は正常で生殖機能も保たれているが, T細胞機能, マクロファージ機能の低下を認め肝再生が阻害されていた。抗原誘導型関節炎, 実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症が抑制された。

臨床応用としては心房粘液腫, Castleman症候群, 肝硬変の血中で高値を示し, グリオブラストーマの脊髄液中, 慢性関節リウマチ関節液中

で高値を示す<sup>9)</sup>。多発性骨髄腫の活動性と関連する。心房粘液腫は自己免疫症状を示すことで知られており、IL-6の自己免疫疾患との関連を強く疑わせる。非比較試験で抗CD4抗体を投与しているRA患者に単クローン性抗IL-6抗体を投与し改善した4例において血漿中のIL-6が高値を示したことから、RAでのIL-6の役割は不明とされていたが、近年、ヒト型IL-6レセプター抗体の投与でCRPなどの臨床検査値と症状の改善を認めたと報告された<sup>10)</sup>。

#### 4. IL-10

マウスではTh2細胞が産生細胞の主体となっているが、ヒトでは抗原刺激や多クローン性B細胞活性化後のヘルパーT細胞により活性化されたCD8陽性T細胞、B細胞リンパ腫、Barkittリンパ腫細胞、AIDSから樹立されたB細胞株産生細胞が主なものとなっている。単球からの産生も報告されており、IL-4やIL-10により抑制される。ヒトIL-10は分子量18.8kDaでEBウイルスのBCRF1領域と高い相同性を持ち、viral IL-10ともいわれ、ウイルスの進化過程で宿主細胞に取り込まれた可能性が指摘されている。遺伝子座は第一染色体上にあり、生物学的作用としては、Th1細胞の主なサイトカインとされるIFN $\gamma$ の産生を抑制する。これは、viral IL-10も同様でウイルスが宿主中で生き延べるための手段とも考えられる。ヒトIL-10は、単球のHLA-DR, B7, ICAM-1の発現を抑制するとの報告もある。CTLの分化、B細胞の生存、活性化B細胞の増殖、免疫グロブリン産生、肥満細胞の生存、増殖を促進する。マウスの系では、IL-10の投与はモノカインの抑制、抗IL-10抗体の投与はIFN $\gamma$ の上昇、モノカインの上昇、エンドトキシンショックの成りやすさの上昇が認められた。IL-10ノックアウトマウスでは炎症性腸炎を起こし、抗IL-12抗体、IFN $\gamma$ 抗体で発症を回避でき、CD4陽性細胞の移植実験で同様の病態を誘発できた。消化管への通常の抗原刺激がTh1細胞の抑制ができず、過剰な反応を起こすことによって起こってきたものと考えられた。

臨床応用としては、モノカインの産生抑制をTh1細胞の過剰反応の抑制により治療することが考えられる。接触性皮膚炎、慢性関節リウマチ、

炎症性肺障害、SLEでの関与が報告されているが実際の臨床応用はまだ不明な点が多い。活動期の非Hodgkin病では血清中にIL-10が検出され、予後に関する負の相関が認められている<sup>11)</sup>。

#### 5. IL-13

マウスではTh2細胞が産生細胞とされているが、ヒトではCD8陽性T細胞、Th0、Th1様細胞でも発現している。分子量は分泌型が10kDaとされ、3次構造がIL-4と類似している。そのレセプターの一部も共有している。遺伝子座は5q31にあり、IL-4と非常に近い位置にある。生物学的機能は、単球にCD11bや11cなどのインテグリンスーパーファミリーを誘導し、接着性の増加や樹枝状細胞様の変化を起こす。HIV感染マクロファージでのウイルス複製の抑制、一酸化窒素の産生抑制による寄生虫感染マクロファージの殺傷の抑制などが報告されている。B細胞に関してはIL-4と独立して、CD40存在下で、IgG、IgEの産生促進、クラススイッチの促進を起こす。ノックアウトマウスではTh2タイプの反応は起こるがTrichuris murisの慢性感染を起こし、寄生虫特異的IgG1、IgG2aがアイソタイプのクラススイッチが変化して、高値を示す。IL-13トランスジェニックマウスではIL-4非依存的にIgEが高値となり、アレルギーの関与に独立してかかわっている可能性が指摘されている。

臨床応用としては、前述した機序で喘息の発症に関与しているとともに肺線維芽細胞の活性化で炎症性サイトカインの誘導がされ、病態に深く関与している可能性が考えられている<sup>12)</sup>。IL-13とpseudomonas exotoxin Aのキメラ分子が胃癌、結腸癌、皮膚癌細胞を殺傷しとくにグリオブラストーマ細胞はそのレセプターを強く発現していることから、少量のもので効果を発揮できるとされている<sup>13)</sup>。AIDSに発症したKaposi肉腫に対する効果も期待されている。実際のもは今後の課題である<sup>14)</sup>。

#### その他のサイトカイン検査の 意義と読み方

造血因子に関しては血液疾患での臨床応用が広くされているが、膠原病リウマチ系疾患では直接的な関与が少なくこの稿では解説しない。

細胞増殖因子については重要と思われる一部のものについて取り上げた。

### 1. IL-1

主な産生細胞は単球だが、好中球、リンパ球、血管内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞、ケラチノサイト、NK細胞、樹状細胞、ミクログリア、アストロサイトなど種々の細胞が産生する。分子量は31kDaの前駆体と17kDaの成熟型に分けられる。IL-1 $\alpha$ と $\beta$ があり、生物活性はほとんど同じであるが、相同性は27%にしか過ぎない。遺伝子座は2q13で生物活性は多岐に渡り、代表的なものとしては、発熱や急性期炎症反応物質の誘導による炎症反応の惹起、T細胞の活性化によるサイトカインの増加、B細胞の活性化に関与する。以前より破骨細胞活性化因子としても知られ骨代謝に重要な役目をしていることは推測されていたが、骨からのCaの遊離を促進しコラーゲン合成を阻害し、軟骨の破壊を起こす。軟骨細胞からのマトロプロテアーゼの遊離を促し、滑膜細胞によるプロスタグランジンE<sub>2</sub>やコラーゲナーゼの産生を高める。

ノックアウトマウスの系ではIL-1 $\alpha$ よりIL-1 $\beta$ が発熱に重要であることが解った。

臨床応用としては、以上の生物学的機能やRA関節液中のIL-1の高値から、治療のためIL-1の作用を阻害する種々の方法が試みられている。この方法一つに組み替え型IL-1 receptor antagonist: rIL-1raによる治療が考えられている。rIL-1raはIL-1誘導性の滑膜細胞のPGE<sub>2</sub>や軟骨細胞のコラーゲナーゼ分泌を抑制し、ラットアジュバント関節炎、連鎖球菌細胞壁関節炎、コラーゲン誘発性関節炎の進行を軽減する。ヒトでは他施設二重盲検試験で175名のRA患者に対して7週間投与したところ安全性には問題なく臨床所見、CRPの改善が認められ<sup>15)</sup>、482名のRA患者を対象とし、6か月の大規模他施設二重盲検試験が行われ、ACR臨床的改善基準で対照27%、rILra 43%と報告され、骨破壊の程度も抑制された。他の方法としては、組み替え型ヒト可溶性IL-1 receptor: rhu sIL-1Rによるものがある<sup>16)</sup>。IL-1RはI型、II型の二種類があり、I型はIL-1よりIL-1raに強く結合するため、rhu sIL-1RのI型の投与により返って炎症反応を悪化する可能性がある。しかし、

関節内、皮下に投与された成績では、疾患の悪化は示されなかった。大規模プラセボ対照比較試験では有用性は認めなかった。

### 2. IL-8

IL-8は主に活性化されたマクロファージで産生され、線維芽細胞、血管内皮細胞、軟骨細胞、ケラチノサイト、肝細胞で産生される。IL-1やTNF $\alpha$ で産生は増強されアストロサイトも同様である。副腎皮質ステロイド薬、IL-4、TGF $\beta$ 、活性化ビタミンD<sub>3</sub>で抑制される。分子量は8kDaで遺伝子座は4q12-q21である。そのレセプターはEBVやKaposi肉腫関連ヘルペスウイルスと相同性があることが知られている。好中球の機能を活性化し、酵素の脱顆粒を促し、ケモカキンスや促進接着分子の発現を促進する。IL-8は直接IgE産生を抑制する。マクロファージ由来IL-8が血管新生を支持し、RAや腫瘍、創傷治癒に影響を与える可能性が指摘されている。IL-8は乾癬やRAで関連がある可能性があり、RA関節液中に高濃度に認められる<sup>17)</sup>。

### 3. IL-15

産生細胞は単球、線維芽細胞でリンパ球系細胞にはmRNAの発現は認めない。分子量は14~15kDaで遺伝子座は4q31である。レセプターはIL-2と共有していて生物学的機能はIL-2に似る。

臨床応用はまだ未定だが、RAで局所で産生されたIL-15がT細胞を活性化し、単球に作用してTNF $\alpha$ の産生を誘導して、炎症を惹起するとの報告がある<sup>18)</sup>。

### 4. IL-18

主にマクロファージが産生し、IFN $\gamma$ -inducing factorといわれていたものでTh1細胞やNK細胞にIFN $\gamma$ 産生を誘導する。分子量はマウスで18kDaとされヒトのものとは相同性65%である。ノックアウトマウスではNK細胞活性とTh1細胞の応答性が欠失している。

臨床応用としては、RAや成人発症Still病の血清中に高値を示したとの報告がある<sup>19)</sup>。また、単純ヘルペスの感染モデルで抗ウイルス効果が示された。

### 5. TNF $\alpha$

産生細胞は活性化マクロファージ、CD4陽性T細胞が主だが、好中球、平滑筋細胞、NK細胞、

線維芽細胞, アストロサイトなども産生する。分子量は膜結合型26kDaで可溶型16kDaである。遺伝子座は6p23-6q12でHLA class IのHLA-Bの近傍に位置する。その生物学的機能は多岐に渡り当初は抗腫瘍作用が検討されたが、炎症免疫細胞に関わる機能に注目されている。TNF $\beta$ と作用は同様だが効果は強い。血管内皮細胞に作用し、抗血栓作用を阻害し、血管炎やDICの病勢に重要な働きをする。血管内皮細胞の増殖は抑制するが、血管新生を促進する。この作用はIFN $\gamma$ により阻害される。マクロファージのIL-1やPGE $_2$ の産生を促進し、破骨細胞を活性化して骨吸収を促す。滑膜細胞にも作用し、コラゲナーゼの産生を増加する。TNF $\alpha$ のトランスジェニックマウスでは慢性炎症性多関節炎を起こし、抗体で完全に予防できる<sup>20)</sup>。

臨床応用としては、上述したようにRAにおいて実際に治療薬として応用されてきている。RA滑膜は大量のTNF $\alpha$ を産生しており、単クローン性キメラ抗TNF $\alpha$ 抗体を使用し、6週間の他施設二重盲検試験を施行した<sup>21)</sup>。結果はCRPやIL-6、罹患関節数などがプラセボ群との比較で改善が得られ、現在ではヒト型抗TNF $\alpha$ 抗体が実際に使用され始めている。しかし、感染症、悪性リンパ腫、SLE様症状などの発症も報告されており、更なる検討が必要である。他の方法として、可溶性TNF receptor : sTNFRの投与が始まっている。TNFRには55kDa(CD120a)と75kDa(CD120b)の2種類がある。180名の治療抵抗性のRAにsTNF $\alpha$ とIgG1のFc部分を結合させたキメラ蛋白を使用し他施設二重盲検試験を行いACRの臨床改善基準で75%の症例が20%以上の改善があり、その後の長期投与で74%が50%の改善を認めた<sup>22)</sup>。

#### 6. VEGF (vascular endothelial growth factor)

分子量約20kDaで血管内皮細胞を特異的に増殖させる因子として報告された。そのレセプターは血管内皮に特異的に発現し、腫瘍細胞からの因子がパラクライン的に作用し固形腫瘍の血管新生を増強すると考えられる。低酸素と低グルコースでこの因子の発現は増強される。RA、糖尿病性網膜症、甲状腺機能亢進症、遅延型アレルギーの際の表皮細胞で発現が強い。

臨床応用はまだ不明だが、新しい抗がん剤または上記疾患の治療に抗体やレセプター阻害などが考えられる。

#### 7. TGF- $\beta$

TGF $\beta$ は血小板、脾臓、骨組織、ヒト乳汁中に検出され、産生細胞はマクロファージ、リンパ球、内皮細胞、軟骨細胞、顆粒球、グリオブラストーマ細胞、白血病細胞と多岐にわたり、 $\beta$ グリカンなどと複合体を作り、細胞外基質に存在している。分子量は12.5kDaの分子が二量体となり25kDaである。アイソフォームが存在し、ほ乳類では3種類知られている。種間でその構造は良く保存されている。分泌時には潜在型として、latency associated protein : LAP とlatent TGF binding protein : LT-BPと結合した形で分泌され、生体内での活性化機転はよく分かっていないが、プラスミンなどの酵素が結合蛋白を外し、立体構造が変化して活性型となると考えられている。急性反応性蛋白の一つである $\alpha$ 2マクログロブリンが結合して炎症局所より排除される。その遺伝子座はTGF $\beta$ 1が19q13で $\beta$ 2,  $\beta$ 3がそれぞれ1q41, 14q24である。生物学的作用は、当初の正常線維芽細胞の悪性形質転換因子として考えられていたものとは違いさまざまな生理活性を有する。上皮細胞、血球系細胞、内皮細胞の増殖抑制や、線維芽細胞、炎症性単核球の遊走促進、内皮細胞の遊走抑制、上皮系細胞や軟骨細胞での分化の促進、骨芽細胞での抑制など細胞機能、分化に関与する。細胞外基質に対しては、プロテアーゼ阻害因子(PAI, TIMP)の産生を亢進して分解を抑制し、蓄積を増やす。細胞外基質のレセプターである $\beta$ 1インテグリンの誘導に促進的に働き、細胞と細胞外基質との接着に促進的に働く。線維芽細胞などに働き、PDGFの産生を促進し、線維芽細胞や平滑筋細胞の増殖には促進的に働く。単球に作用し、TNF $\alpha$ やIL1を誘導し、活性化したキラー細胞にはIFN $\gamma$ やTNF $\alpha$ を抑制する。TGF $\beta$ 1のノックアウトマウスでは半数が血管内皮分化異常と造血異常で死亡し、誕生後も炎症後の組織壊死を起こし多臓器不全で20日で死亡する。

臨床応用としては、臓器繊維化を起こす強皮症、肝硬変症、肺線維症、糸球体腎炎、ケロイ