

(ELISA) using a human TNF α ELISA kit (PeproTech) and a human VEGF immunoassay kit (BioSource International, Camarillo, CA).

RNA isolation and real-time quantitative polymerase chain reaction. Total RNA was isolated from purified bone marrow CD34+ cells using TRIzol reagent (Life Technologies) according to the manufacturer's instructions. Complementary DNA (cDNA) samples were prepared from 1 μ g of total RNA using the SuperScript reverse transcriptase preamplification system (Life Technologies) with oligo(dT) primers and were subjected to PCR. Real-time quantitative PCR was performed using the LightCycler rapid thermal cycler system (Roche Diagnostics, Lewes, UK) with primer sets for VEGFR-2/KDR or β -actin (Nihon Gene Research Laboratories, Sendai, Japan) and LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche Diagnostics).

The primer sequences were as follows: for KDR, 5'-CAGACGGACAGTGGTATGGT-3' (forward) and 5'-GCCTTCAGATGCCACAGACT-3' (reverse); and for β -actin, 5'-GCAAAGACCTGTACGCCAAC-3' (forward) and 5'-CTAGAAGCATTTCGGGTGGA-3' (reverse). The PCR reaction conditions were as follows: denaturing at 95°C for 10 minutes for 1 cycle, followed by 40 cycles of denaturing at 95°C for 10

seconds, annealing at 62°C for 10 seconds, and extension at 72°C for 5 seconds (KDR) or 10 seconds (β -actin). Quantitative analysis was performed using LightCycler software version 3.5. All results for KDR were calibrated to the copy number of β -actin from each cDNA sample.

RESULTS

Synovial histopathologic features in RA. A number of studies have confirmed that the microscopic appearance of RA synovial tissue is variable (18). Consistent with those studies, Figures 1A and B show representative patterns of neovascularization seen in RA synovium in this study. It appears that the overall degree of neovascularization is correlated with the degree of exudation, cellular infiltration, and granulation tissue development, which are characteristic features of RA synovium (18). Thus, synovium with marked granulation and cellular infiltration showed the maximal degree of neovascularization (Figures 1A and B part

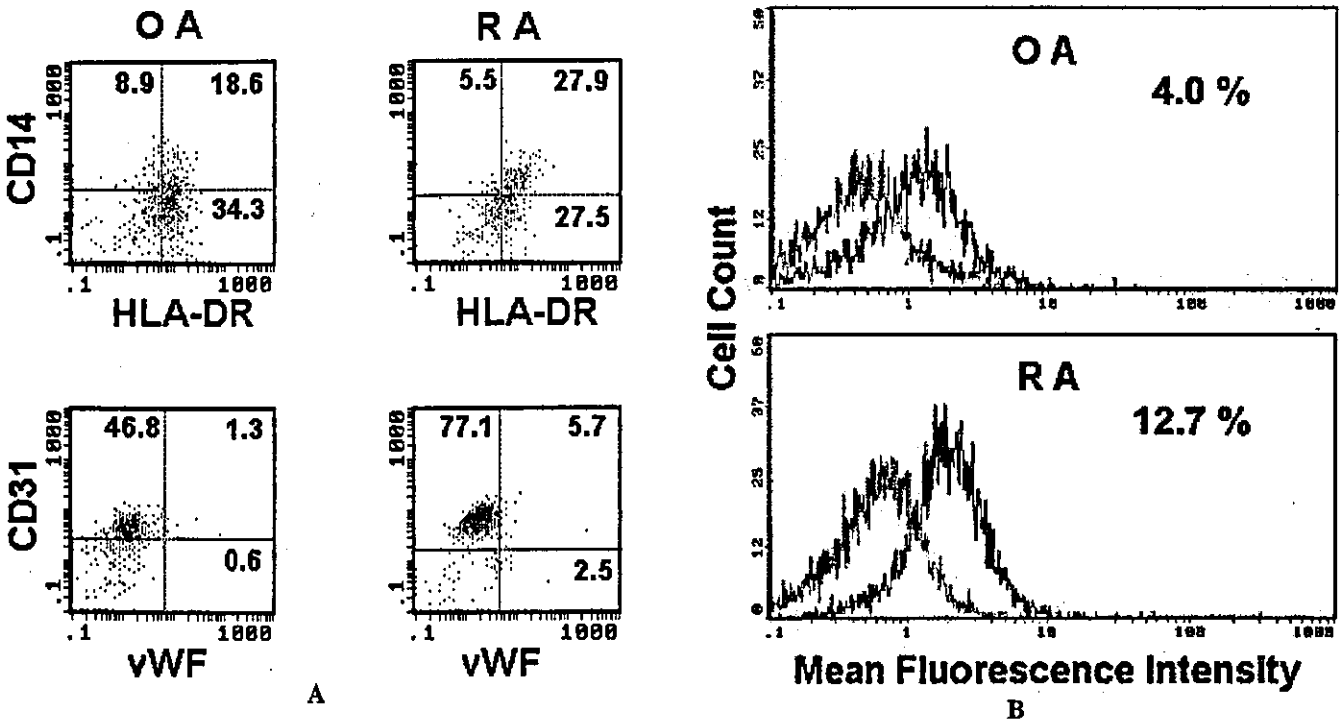


Figure 2. Representative 2-color and single-color flow cytometric analyses of the phenotypes of CD34+ cells stimulated with stem cell factor (SCF) and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). CD34+ cells from the bone marrow of a rheumatoid arthritis (RA) and an osteoarthritis (OA) patient were stimulated for 18 days with SCF and GM-CSF, stained with phycoerythrin (PE)-conjugated anti-CD14 and fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-HLA-DR or with PE-conjugated anti-CD31 and FITC-conjugated von Willebrand factor (vWF), and analyzed by flow cytometry. A, The quadrant boundaries were determined by analysis of isotype-matched control cells. Values shown are percentages of cells. B, Single-color analysis of the expression of vWF (left histogram). Right histogram shows control staining. Percentages shown are for vWF+ cells. Figure 2B can be viewed in color in the online issue, which is available at <http://www.arthritisrheum.org>.

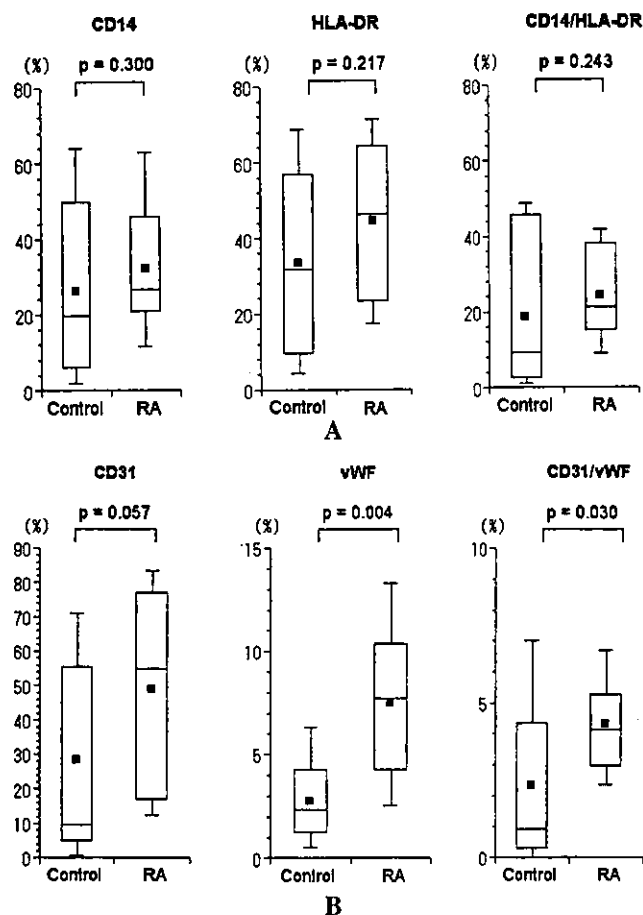


Figure 3. Phenotypic features of bone marrow-derived CD34+ cells stimulated with SCF and GM-CSF. Bone marrow CD34+ cells from 13 RA patients and 9 control subjects were stimulated for 18 days with SCF and GM-CSF, stained with A, PE-conjugated anti-CD14 and FITC-conjugated anti-HLA-DR or B, PE-conjugated anti-CD31 and FITC-conjugated anti-vWF, and analyzed by flow cytometry. Data are shown as box plots. Horizontal lines constituting the top, middle, and bottom of the boxes show the 75th, 50th, and 25th percentiles, respectively. Lines outside the boxes show the 90th and 10th percentiles. Solid squares inside the boxes show the mean. *P* values were determined by Mann-Whitney U test. See Figure 2 for definitions.

d), whereas the synovium with trace amounts of exudation and cellular infiltration lacked neovascularization. The results therefore suggest that neovascularization might play a role in development of inflamed synovium in RA.

Generation of vWF+ cells from bone marrow-derived CD34+ cells. After stimulation of bone marrow CD34+ cells (1.0×10^5) with SCF and GM-CSF for 18 days, the mean \pm SD number of recovered cells was $3.85 \pm 2.97 \times 10^5$ for RA patients and $3.79 \pm 3.18 \times$

10^5 for control subjects ($P = 0.6401$ by Mann-Whitney U test). Figures 2A and B show, respectively, the representative dual-parameter 4-quadrant scattergrams and single-color histograms of the bone marrow CD34+ cells stimulated with SCF and GM-CSF for 18 days.

A similar percentage of cultured CD34+ cells from the RA patient and the OA control patient expressed CD14 and HLA-DR. Although in Figure 2A, bone marrow CD34+ cells from the RA patient generated higher percentages of CD14+/HLA-DR+ cells, there was no significant difference in the percentages of CD14+ cells and CD14+/HLA-DR+ cells generated by bone marrow CD34+ cells from the 9 control subjects and the 13 RA patients (Figure 3A). In contrast, bone marrow CD34+ cells from the RA patient gave rise to higher numbers of vWF+ cells and CD31+/vWF+ cells than did those from the OA control patient (Figures 2A

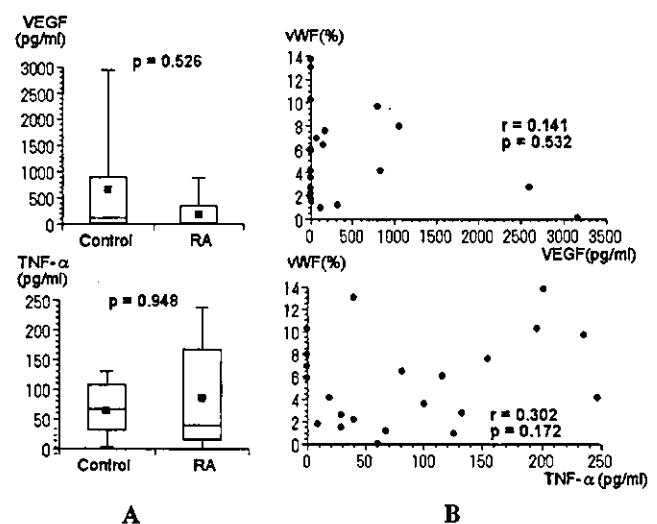


Figure 4. Production of vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor necrosis factor α (TNF α) by bone marrow-derived CD34+ cells and correlation with the generation of von Willebrand factor (vWF)-positive cells. Bone marrow CD34+ cells from 13 rheumatoid arthritis (RA) patients and 9 control subjects were stimulated for 18 days with stem cell factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Cells were analyzed for vWF expression by flow cytometry; supernatants were assayed for VEGF and TNF α by enzyme-linked immunosorbent assay. **A**, Data are shown as box plots. Horizontal lines constituting the top, middle, and bottom of the boxes show the 75th, 50th, and 25th percentiles, respectively. Lines outside the boxes show the 90th and 10th percentiles. Solid squares inside the boxes show the mean. *P* values were determined by Mann-Whitney U test. **B**, Correlations between the generation of vWF+ cells and the production of each cytokine was evaluated by simple regression analysis.

and B). Accordingly, bone marrow CD34+ cells from the 13 RA patients generated significantly higher numbers of vWF+ cells as well as CD31+/vWF+ cells than did those from the 9 control subjects, although there was no significant difference in the number of CD31+ cells (Figure 3B). These results indicate that upon stimulation with SCF and GM-CSF, bone marrow CD34+ cells from RA patients have enhanced capacities to generate endothelial cells compared with control subjects, whereas the capacities of RA bone marrow CD34+ cells to give rise to CD14+ monocyte-lineage cells were comparable to those of the control subjects.

Relationship between the generation of vWF+ cells and the production of VEGF and TNF α . It was possible that the enhanced generation of vWF+ cells from RA bone marrow-derived CD34+ cells might be a result of the increased production of angiogenic cytokines. In fact, it has been reported that VEGF (19,20) and TNF α (21–24) play a major role in regulating neovascularization in RA. Our next experiments therefore examined the capacity of bone marrow CD34+ cells stimulated with SCF plus GM-CSF to produce VEGF and TNF α . As can be seen in Figure 4, there were no significant differences in the production of VEGF and TNF α by RA bone marrow CD34+ cells and control bone marrow CD34+ cells. In addition, the generation of vWF+ cells was not significantly correlated with the production of VEGF or TNF α . The results therefore suggest that the enhanced generation of vWF+ cells from RA bone marrow CD34+ cells might not be due to the increased production of angiogenic cytokines but, more likely, it may be due to the intrinsic abnormalities of the bone marrow CD34+ cells.

Relationship between the capacity of bone marrow-derived CD34+ cells to generate endothelial cells and the vascularization of the synovium. To further confirm the role of the bone marrow in synovial neovascularization, we next examined the relationship between the capacity of bone marrow CD34+ cells to generate vWF+ cells and the degree of vascularization in the synovium in synovium samples obtained from 10 of the RA patients and 6 of the OA patients on the same day as the bone marrow samples. The degree of vascularization in the synovium was analyzed under light microscopy and scored as described in Materials and Methods. The degree of synovial vascularization in the RA patients was significantly elevated compared with that in the OA patients. In addition, the capacity of bone marrow CD34+ cells to generate vWF+ cells was significantly

correlated with the degree of vascularization in the synovium in these 16 patients (data not shown).

To evaluate the synovial vascularization in a more objective manner, we calculated the CD31+ microvessel densities in the synovium. As shown in Figure 5, the synovial microvessel densities were significantly higher in RA patients than in OA patients. Moreover, the microvessel densities were also significantly correlated with the generation of vWF+ cells from bone marrow-derived CD34+ cells in the 16 patients with OA or RA. The results therefore suggest that vasculogenesis occurring through mobilization of endothelial progenitor cells from the bone marrow might be involved, at least in part, in the synovial neovascularization, and may thus play a significant role in the pathogenesis of RA.

Expression of mRNA for VEGFR-2/KDR in bone marrow-derived CD34+ cells. Recent studies have revealed that the vascular activation by VEGF/KDR was significantly higher in RA than in OA, although activation of the hypoxia inducing factor α (HIF α) pathway was comparable in RA and OA (25). It was therefore possible that there might be differences in the activation

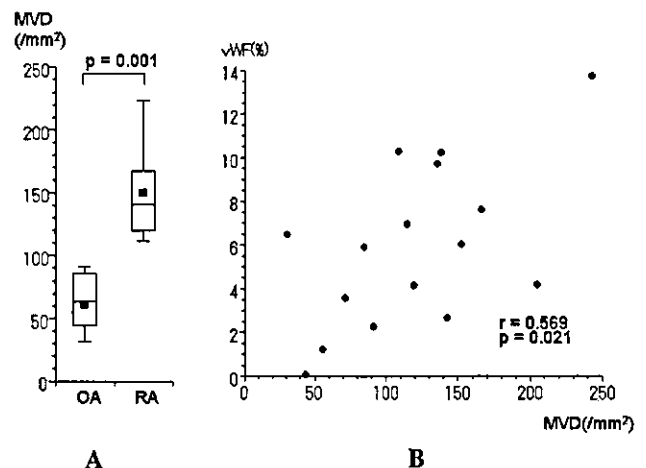


Figure 5. Correlation between synovial microvessel densities (MVD) and the generation of von Willebrand factor (vWF)-positive cells from bone marrow-derived CD34+ cells. Synovial microvessel densities were compared between 10 rheumatoid arthritis (RA) patients and 6 osteoarthritis (OA) patients. **A**, Data are shown as box plots. Horizontal lines constituting the top, middle, and bottom of the boxes show the 75th, 50th, and 25th percentiles, respectively. Lines outside the boxes show the 90th and 10th percentiles. Solid squares inside the boxes show the mean. *P* values were determined by Mann-Whitney U test. **B**, Correlations between the microvessel densities and the generation of vWF+ cells from bone marrow CD34+ cells in the 16 patients was determined by simple regression analysis.

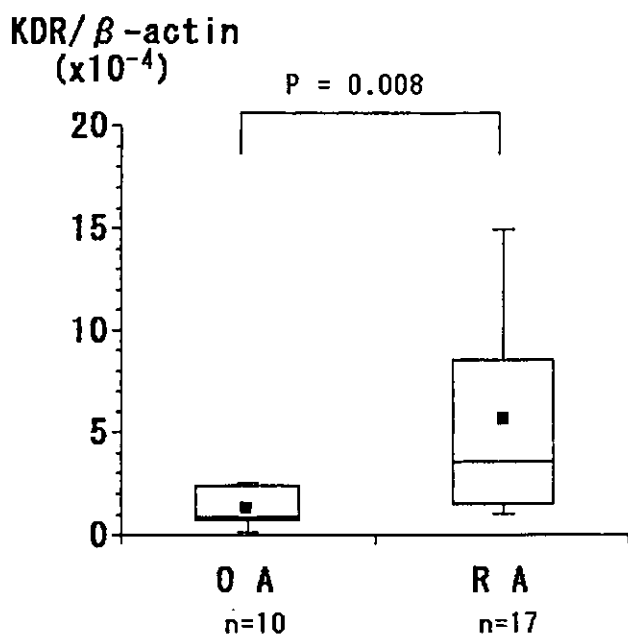


Figure 6. The expression of vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2)/kinase insert domain receptor (KDR) mRNA in bone marrow-derived CD34+ cells. RNA was extracted from bone marrow CD34+ cells obtained from rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) patients and subjected to quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction for VEGFR-2/KDR. The copy numbers for VEGFR-2/KDR mRNA were calibrated to those for β -actin. Data are shown as box plots. Horizontal lines constituting the top, middle, and bottom of the boxes show the 75th, 50th, and 25th percentiles, respectively. Lines outside the boxes show the 90th and 10th percentiles. Solid squares inside the boxes show the mean. *P* values were determined by Mann-Whitney U test.

of the VEGF/KDR pathway in bone marrow CD34+ cells. To explore this possibility, our final experiments examined the expression of KDR mRNA in bone marrow CD34+ cells as measured by quantitative reverse transcription-PCR. As can be seen in Figure 6, the expression of VEGFR-2/KDR mRNA in bone marrow CD34+ cells from 17 patients with RA was significantly higher than that in bone marrow CD34+ cells from 10 patients with OA. The results therefore suggest that up-regulation of KDR mRNA in bone marrow CD34+ cells in RA might result in their enhanced capacity to generate endothelial cells.

DISCUSSION

A number of studies have indicated that neovascularization is crucial to the synovial hyperplasia of RA (7,8). Postnatal neovascularization has been attributed

to so-called angiogenesis, a process characterized by the sprouting of new capillaries from preexisting blood vessels (10). Thus, it has been shown that the expression of angiogenic factors, such as VEGF and basic fibroblast growth factor in synovial lining cells and stromal cells, is increased in RA synovium and plays a pivotal role in the angiogenesis (19,20,23). It is noteworthy that recent studies have demonstrated that endothelial progenitor cells of bone marrow origin play a significant role in the de novo formation of capillaries without preexisting blood vessels, so-called vasculogenesis (11-14). Moreover, bone marrow-derived endothelial precursor cells have been shown to home to neovascularized hind limb ischemic sites in animal models (11). Results of the current studies have shown that the generation of vWF+ endothelial cells from bone marrow CD34+ cells is up-regulated in RA. The data therefore suggest that mobilization of endothelial cells from bone marrow might also be enhanced and be involved in neovascularization of the RA synovium. It is thus likely that bone marrow-derived endothelial precursor cells might be homing to the synovium, where angiogenesis is enhanced (7,8).

It has been shown that bone marrow-derived endothelial progenitor cells make a significant contribution to angiogenic growth factor-induced neovascularization that may account for up to 26% of all endothelial cells (26,27). It is therefore likely that the enhanced capacity of bone marrow CD34+ cells to generate vWF+ cells might also play a critical role in the synovial neovascularization in RA. In fact, we found that the degree of synovial vascularization as well as the microvessel densities in RA synovium were much higher than those in OA synovium, findings that are consistent with those of a previous study (28). More important, the generation of vWF+ cells from bone marrow-derived CD34+ cells was significantly correlated with the degree of synovial vascularization as well as with the microvessel densities in arthritis patients. The data therefore raise the possibility that the mobilization of endothelial progenitor cells from bone marrow might also contribute to the enhanced synovial neovascularization in RA, although a direct role for these bone marrow-derived cells in synovial neovascularization remains to be elucidated. Further studies to explore in detail the capacity of endothelial progenitor cells generated from bone marrow CD34+ cells to undergo angiogenesis would be important.

Previous studies have shown that hematopoietic cytokines, such as SCF and GM-CSF, have potent

effects on endothelial cells and facilitate angiogenesis (29). In the current studies, we demonstrated that SCF and GM-CSF also induce the generation of endothelial cells from bone marrow CD34+ cells and, thus, participate in vasculogenesis. The mechanism of the enhanced generation of endothelial cells from RA bone marrow CD34+ cells stimulated with SCF and GM-CSF is still unclear. It is possible that the production of VEGF, presumably by CD14+ cells induced from CD34+ cells, might be enhanced in cultures of RA bone marrow-derived CD34+ cells. However, there were no significant differences in the production of VEGF between RA patients and control subjects. Moreover, the generation of vWF+ cells was not significantly correlated with the production of VEGF. It is therefore unlikely that the enhanced generation of vWF+ cells from RA bone marrow CD34+ cells might result from the up-regulation of VEGF production.

TNF α plays a crucial role in regulating not only inflammation, but also neovascularization in RA synovium (21–24). Anti-TNF α treatment in RA patients has been found to inhibit vascularity in the synovium (30,31). The results of the current studies revealed that significant amounts of TNF α were produced in cultures of bone marrow CD34+ cells. However, there were no significant differences in the production of TNF α by bone marrow CD34+ cells from RA patients and control subjects, nor was the generation of vWF+ cells significantly correlated with the production of TNF α . Therefore, the enhanced generation of vWF+ cells might not be accounted for by the increased production of TNF α , although it is still possible that up-regulation of the production of angiogenic factors other than VEGF and TNF α might be involved in the enhanced generation of vWF+ cells from RA bone marrow CD34+ cells. Alternatively, it is also possible that the reactivity of RA bone marrow CD34+ cells to various cytokines might be different from that of control bone marrow CD34+ cells. In this regard, previous studies have shown that RA bone marrow CD34+ cells have abnormal capacities to respond to TNF α and differentiate into fibroblast-like cells producing MMP-1 (5).

Neovascularization of the synovium is not unique to RA. It has also been observed in OA synovium and has been shown to play an important role in the development of new cartilage and mineralization (25,32,33). Of note, recent studies have revealed that levels of expression of the angiogenic factors VEGF and platelet-derived endothelial cell growth factor are increased in RA as well as in OA, relative to normal subjects,

whereas the presence of an activated synovial vasculature was high only in RA (25). Moreover, the vascular activation by VEGF/KDR was significantly lower in OA than in RA patients, although the activation of the HIF α pathway was comparable in OA and RA patients (25). These observations suggest the presence of intrinsic abnormalities in synovial endothelial cells in RA patients. Of note, in the present study, RA bone marrow CD34+ cells displayed a higher capacity to generate vWF+ endothelial cells than did OA bone marrow CD34+ cells. Moreover, the expression of VEGFR-2/KDR mRNA in RA bone marrow CD34+ cells was significantly higher than that in OA bone marrow CD34+ cells. It is therefore likely that the differences in VEGF/KDR vascular activation at the level of bone marrow CD34+ cells between RA and OA patients might result in differences in their capacity to generate vWF+ cells, since signaling through the KDR plays a crucial role in the generation of endothelial cells (17,19). Further studies to delineate the precise sequelae of the up-regulation of KDR mRNA expression would be helpful for a complete understanding not only of the differences in synovial neovascularization in RA and OA, but also of the pathogenesis of RA.

REFERENCES

1. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum* 1990;33:768–73.
2. Burmester GR, Stuhlmuller B, Keyszer G, Kinne RW. Mononuclear phagocytes and rheumatoid synovitis: mastermind or workhorse in arthritis? *Arthritis Rheum* 1997;40:5–18.
3. Hirohata S, Yanagida T, Itoh K, Nakamura H, Yoshino S, Tomita T, et al. Accelerated generation of CD14+ monocyte-lineage cells from the bone marrow of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 1996;39:836–43.
4. Firestein GS. Invasive fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis: passive responders or transformed aggressors? *Arthritis Rheum* 1996;39:1781–90.
5. Hirohata S, Yanagida T, Nagai T, Sawada T, Nakamura H, Yoshino S, et al. Induction of fibroblast-like cells from CD34+ progenitor cells of the bone marrow in rheumatoid arthritis. *J Leukoc Biol* 2001;70:413–21.
6. Berthelot JM, Bataille R, Maugars Y, Prost A. Rheumatoid arthritis as a bone marrow disorder. *Semin Arthritis Rheum* 1996;26:505–14.
7. Koch AE. Angiogenesis: implications for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41:951–62.
8. Firestein GS. Starving the synovium: angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999;103:3–4.
9. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9:653–60.
10. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931–4.
11. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964–7.

12. Gehling UM, Ergun S, Schumacher U, Wagener C, Pantel K, Otte M, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood* 2000;95:3106-12.
13. Bhattacharya V, McSweeney PA, Shi Q, Bruno B, Ishida A, Nash R, et al. Enhanced endothelialization and microvessel formation in polyester grafts seeded with CD34⁺ bone marrow cells. *Blood* 2000;95:581-5.
14. Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Hebbel RP. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest* 2000;105:71-7.
15. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1185-9.
16. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
17. Giatromanolaki A, Sivridis E, Athanassou N, Zois E, Thorpe PE, Brekken RA, et al. The angiogenic pathway "vascular endothelial growth factor/flk-1 (KDR)-receptor" in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Pathol* 2001;194:101-8.
18. Hough AJ Jr. Pathology of rheumatoid arthritis and allied disorders. In: McCarty DJ, Koopman WJ, editors. *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*. 12th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. p. 737-61.
19. Koch AE, Harlow LA, Haines GK, Amento EP, Unemori EN, Wong WL, et al. Vascular endothelial growth factor: a cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1994;152:4149-56.
20. Fava RA, Olsen NJ, Spencer-Green G, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, et al. Vascular permeability factor/endothelial growth factor (VPF/VEGF): accumulation and expression in human synovial fluids and rheumatoid synovial tissue. *J Exp Med* 1994;180:341-6.
21. Maini RN, Taylor PC, Paleolog E, Charles P, Ballara S, Brennan FM, et al. Anti-tumor necrosis factor specific antibody (infliximab) treatment provides insights into the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999;58 Suppl 1:I56-60.
22. McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg* 1999;134:1325-31.
23. Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC. Dual role of tumor necrosis factor- α in angiogenesis. *Am J Pathol* 1992;140:539-44.
24. Yoshida S, Ono M, Shono T, Izumi H, Ishibashi T, Suzuki H, et al. Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor α -dependent angiogenesis. *Mol Cell Biol* 1997;17:4015-23.
25. Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, Athanassou N, Papanagou D, Gatter KC, et al. Upregulated hypoxia inducible factor-1 α and -2 α pathway in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2003;5:R193-201.
26. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999;5:434-8.
27. Murayama T, Tepper OM, Silver M, Ma H, Losordo DW, Isner JM, et al. Determination of bone marrow-derived endothelial progenitor cell significance in angiogenic growth factor-induced neovascularization in vivo. *Exp Hematol* 2002;30:967-72.
28. Neidhart M, Wehrli R, Bruhlmann P, Michel BA, Gay RE, Gay S. Synovial fluid CD146 (MUC18), a marker for synovial membrane angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:622-30.
29. Pelletier L, Regnard J, Fellmann D, Charbord P. An in vitro model for the study of human bone marrow angiogenesis: role of hematopoietic cytokines. *Lab Invest* 2000;80:501-11.
30. Criscione LG, St Clair EW. Tumor necrosis factor- α antagonists for the treatment of rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:204-11.
31. Feldmann M, Maini RN. Anti-TNF α therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Annu Rev Immunol* 2001;19:163-96.
32. Brown RA, Weiss JB, Tomlinson IW, Phillips P, Kumar S. Angiogenic factor from synovial fluid resembling that from tumours. *Lancet* 1980;1:682-5.
33. Haywood L, McWilliams DF, Pearson CI, Gill SE, Ganesan A, Wilson D, et al. Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:2173-7.

《難治性病態の治療戦略》 腸管 Behçet 病

廣畑俊成 菊地弘敏*

はじめに●

Behçet 病 (Behçet's disease) は、再発性口腔内アフタ性潰瘍、皮膚症状、外陰部潰瘍、眼病変(ぶどう膜炎)を四大主症状とする原因不明の炎症に基づく症候群である。本症は、四大主症状をすべて示す完全型とそうでない不全型とに分類される。一方、特殊病型として、消化管の潰瘍性病変を示す腸管 Behçet 病、大小の動静脈の病変をきたす血管 Behçet 病、脳幹・小脳・大脳白質の病変を主体とする神経 Behçet 病、の3型が定義されている。Behçet 病の臓器病変としてはこれらの3つの特殊病型がきわめて重要であり、ときとして生命予後を左右する場合も少なくない。

本稿においては、これら Behçet 病の特殊病型の中で、腸管 Behçet 病について概説したい。

腸管 Behçet 病の臨床的特徴●

1. 疫学的事項

Behçet 病発症後、数年を経たものに多い¹⁾。1991年の厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班の疫学調査の結果では、消化管病変の合併率は全 Behçet 病患者の 15.5%であった²⁾。発症頻度に男女差はなく、発症のピークは 40 歳前後である³⁾。HLA-B 51 の陽性率は 43.5%で、むしろ Behçet 病全体よりも低い傾向を示している²⁾。

2. 臨床症状と病理組織所見

Behçet 病においては食道から直腸までのすべての部位に潰瘍性病変を生じうる³⁾。食道潰瘍は、Behçet 病の発症早期よりみられ、嚥下痛・嚥下困



Fig. 1. Behçet 病患者にみられた食道潰瘍

難をきたす (Fig. 1)。また、まれにその治癒後に食道の狭窄を残すことがある。一方、下部消化管の病変(いわゆる腸管 Behçet 病)は、Behçet 病発症後数年を経て出現する遅発性病変であり、定型的には回盲部に深い潰瘍を形成する (Fig. 2)。腹痛・下血・腹部腫瘤を示し、発熱を伴うこともある。穿孔を起こす場合もあるので注意が必要である。このような定型的回盲部病変のほかに、潰瘍性大腸炎様の病変などを示す場合もみられる (Fig. 3)。近年はこうした非定型病変の割合が増加する傾向がみられる³⁾。Fig. 4 に、当教室で 1989～1999 年のあいだに経験した 26 症例の病変部位の分布を示す。

病理組織学的には非特異的な炎症像が認められる。定型的な症例では、潰瘍部粘膜下層の小静脈に内膜増殖や血栓形成を認め、microangiography

* S. Hirohata (助教授), H. Kikuchi : 帝京大学内科。



Fig. 2. Behçet 病患者にみられた回盲部潰瘍

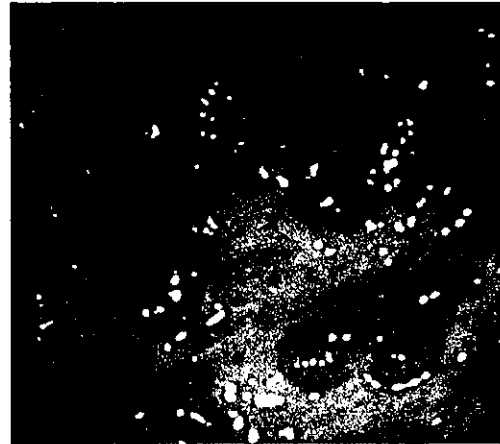


Fig. 3. Behçet 病患者にみられた潰瘍性大腸炎様の病変
インディゴカルミン染色

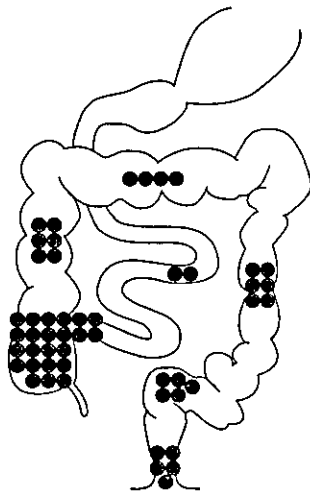


Fig. 4. 当教室で1989～1999年のあいだに経験した腸管 Behçet 病患者 26 症例の下部消化管病変の分布

部位	症例数	割合
回盲部単独病変	15	69.2%
回盲部病変+食道潰瘍	1	
回盲部病変+胃潰瘍	2	
回盲部病変+小腸病変	1	
回盲部病変+大腸病変	1	
小腸病変+回盲部病変+大腸病変	1	30.8%
多発大腸潰瘍	1	
大腸腫瘤形成	1	
潰瘍性大腸炎様病変	2	
食道潰瘍+潰瘍性大腸炎様病変	1	

で潰瘍部周囲の avascular area を認めることもある⁴⁾。こうした血流障害が腸管穿孔と密接に関係する可能性が指摘されている⁴⁾。腸管 Behçet 病においては、こうした静脈炎に基づく血栓形成がみられる点において、Crohn 病や潰瘍性大腸炎と大きく異なっている⁵⁾。

腸管 Behçet 病の治療●

腸管 Behçet 病の治療については、明確なエビデンスに基づいたガイドラインはない。Table 1 に厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班により発表されたガイドラインの抜粋を示しておく⁶⁾。治療の基本は、①腸管の炎症の抑制、②栄

Table 1. 腸管 Behçet 病の治療

外科的治療を必要とする場合
静脈栄養に切り換え、外科的手術を行う。この場合問題になることは、被刺激性亢進による手術創の過剰反応(再穿孔、再閉塞など)である。この反応を抑えるために、ステロイドのミニパルス療法が必要なことがある。
内科的治療
ステロイドの漫然とした長期にわたる使用は腸穿孔を促し、予後不良の一因になりうるので慎むべき。 慢性期：salazosulfapyridine(2~4 g/day)・抗潰瘍薬・乳酸菌製剤・抗コリン製剤・鎮痙薬(papaverine hydrochloride 300 mg/day)・トランキライザーなど 急性期：活動性が強い場合、ステロイドの内服を行う。

[文献6)より引用]

養状態の改善と維持, ③合併症の予防, に尽きる。ステロイド(prednisolone 30~60 mg/day)は急性期に著効することがあるが, 常に有効とは限らない。逆に, 漫然とした長期の連用はむしろ腸穿孔のリスクを高めるので慎むべきであるともいわれている。ただ, 一方でステロイドの有効性も報告されており³⁾, ステロイドの使用については今後さらに検討していく必要がある。

腸管 Behçet 病では血液の凝固性の亢進がみられ, 静脈血栓と穿孔との関係が強く示唆されることから, 低用量 aspirin などの抗血小板療法の有効性も指摘されている。

近年, Crohn 病で有効性の証明された抗 TNF- α 療法が腸管 Behçet 病に有効であるとの報告があるが⁷⁾, われわれの自験例ではまったく効果を示さなかった。抗 TNF- α 療法の腸管 Behçet 病に対する有効性については, 今後さらに検討していく必要がある。

文 献●

- 1) 稲葉午朗, 加来秀彦: 特殊型 Behçet 病. 医のあゆみ 164: 22, 1993
- 2) Nakae K et al: Recent epidemiological features of Behçet's disease in Japan. Behçet's Disease, ed by Godeau P, Wechsler B, Elsevier, Amsterdam, p 145-151, 1993
- 3) 星野恵津夫ほか: ベーチェット病の消化管病変. 臨消内科 14: 1769, 1999
- 4) Baba S, Morioka S: Treatment of intestinal Behçet's disease. Behçet's Disease, ed by Inaba G, University of Tokyo Press, Tokyo, p 559-570, 1982
- 5) Bayraktar Y et al: Gastrointestinal manifestations of Behçet's disease. J Gastroenterol 30: 144, 2000
- 6) 増田寛次郎: ベーチェット病治療マニュアル. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班 平成6年度研究業績集, p 49-51, 1995
- 7) Hassard PV et al: Anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy for gastrointestinal Behçet's disease: a case report. Gastroenterology 120: 995, 2001

特集

膠原病とその類縁疾患と肺

成人発症Still病と肺病変*

大島 信治**
広畑 俊成***

Key Words : adult onset Still's disease, ARDS, pleuritis, interstitial pneumonitis, cytokines

はじめに

小児の慢性関節炎である若年性関節リウマチは、その臨床症状の違いによって全身型、小関節型、多関節型の3型に分類されるが、中でも全身型は皮疹を伴う熱性疾患として特徴づけられStill病と呼ばれる。小児に特徴的とされていたこのStill病であるが、1971年にBywaters¹⁾により成人にも同様の症状を呈する例が報告されて以来、成人発症Still病として数多くの症例報告がなされている。

本症は、関節痛、発熱(38℃を超える弛張熱)、皮疹(サーモンピンク疹)、咽頭痛、リンパ節腫大、肝脾腫などがみられ、不明熱の鑑別疾患としてあげられる重要な疾患である。検査所見としては白血球数増加、血清フェリチン上昇、肝機能異常、LDH上昇などがみられる。抗核抗体やリウマトイド因子は通常陰性である。本症の診断は上記の臨床・検査所見の組み合わせによりなされるが、感染症・悪性腫瘍・膠原病などの除外診断を的確に行うことが重要で、ここに診断の難しさがある。成人発症Still病の診断基準はこれまでいくつか提唱されているが^{2)~6)}、本邦において作成された山口らの基準は感度96.2%、特異度92.1%と他の基準と比較して優れており、有

表1 成人発症Still病の診断基準

【大項目】

1. 発熱(>39℃, 1週間以上続く)
2. 関節炎(2週間以上続く)
3. 定型的皮疹
4. 白血球増加(>10,000, 好中球>80%)

【小項目】

2. 咽頭痛
3. リンパ節腫脹または脾腫
4. 肝機能異常(薬剤性を除外)
5. リウマトイド因子, 抗核抗体陰性

【除外項目】

1. 感染症(とくに敗血症, 伝染性単核球症)
2. 悪性腫瘍(とくに悪性リンパ腫)
3. リウマチ性疾患(とくに結節性多発動脈炎, リウマトイド血管炎)

大項目, 小項目の計8項目のうち5項目(大項目2以上を含む)以上を満たし, 除外診断がなされる症例を成人発症Still病と分類する。

(文献⁶⁾より引用)

用性が高いと考えられる(表1)⁶⁾。本症の合併症としては、近年血球食血症候群(HPS)や播種性血管内凝固症候群(DIC)が注目されているが、肺病変を合併することも知られている。本編では、成人発症Still病の肺病変について概説してみたい。

成人発症Still病と肺病変

他の膠原病に比し、成人発症Still病の肺病変については、これまであまり注目はされていない。

* Pulmonary complications of adult onset Still's disease.

** Nobuharu OHSIMA, M.D., Ph.D.: 東京大学大学院医学系研究科呼吸器内科学[〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1]; Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo Graduate School of Medicine, Tokyo 113-8655, JAPAN

*** Shunsei HIROHATA, M.D.: 帝京大学医学部内科



図1 成人発症Still病でみられた胸膜炎
正面像(左)でははっきりしないが、側面像(右)で背側に胸水貯留がみられる。

成人発症Still病でみられる肺病変は、胸膜炎、間質性肺病変などがある。稀であるが、重篤となり、成人呼吸促進症候群(ARDS)を呈する症例があるので注意が必要である。

1. 胸膜炎

胸膜炎は、なんらかの原因によって臓側胸膜と壁側胸膜に囲まれた胸腔内に炎症が生じ、滲出性の貯留液と炎症性細胞の浸潤を有するものであるが、成人発症Still病においてはもっともよくみられる肺病変である。頻度は、報告者によって異なり、12~53%とされている⁷⁾⁸⁾。成人発症Still病の発症初期や急性増悪時にしばしばみられるが、通常では胸水の量は少量であり、胸水穿刺を必要とすることはほとんどない(図1)。胸水は無菌性の浸出液である⁹⁾。胸膜炎は非特異的な炎症像を示すが、血管炎は認められない⁹⁾。胸膜炎に一過性の肺浸潤影を伴ったり、心膜炎を合併することもよくみられる。成人発症Still病の治療としては、中等量以上の副腎皮質ステロイドが用いられるが、これにより通常胸膜炎は比較的すみやかに消失する(図2)。

2. 間質性肺病変

成人発症Still病においてもっとも頻度が高い間質性肺病変は、急性の一過性の肺浸潤影である。

組織学的には、急性間質性肺炎の像を呈し、部分的な線維化を伴うものもある。血管炎(vasculitisやcapillaritis)の像は認められない⁹⁾。慢性持続性の間質性肺病変を呈した症例に対してTBLBによる生検を行い病理組織像を検索した報告によると^{10)~12)}、リンパ球の浸潤および軽度の肺胞壁線維化が主体である。この病理組織をいわゆるIPの分類のどこに入れるかは非常に難しいが、少なくともusual interstitial pneumonia(UIP)やdesquamative interstitial pneumonia(DIP)とは異なるものである。今後病理組織の検討を積み重ねてゆく必要がある。

急性型の間質性肺病変は中等量以上の副腎皮質ステロイドに良好な反応を示すが、中には重篤な呼吸不全に進展し、免疫抑制剤の使用が必要な場合もある。慢性型については、副腎皮質ステロイドへの反応性のよくない場合が報告されている⁹⁾。

3. 肺高血圧

わずか2例であるが、成人発症Still病に合併した肺高血圧症が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。症状はStill病による発熱、皮疹などの他に乾性咳嗽、労作時呼吸困難などの呼吸器系の症状がみられるが、胸膜炎や間質性肺病変の合併はみられていない。診断の手がかりになる検査としては、呼吸機能検査による肺拡散能(DLCO)の低下(1例は32.5%、1例

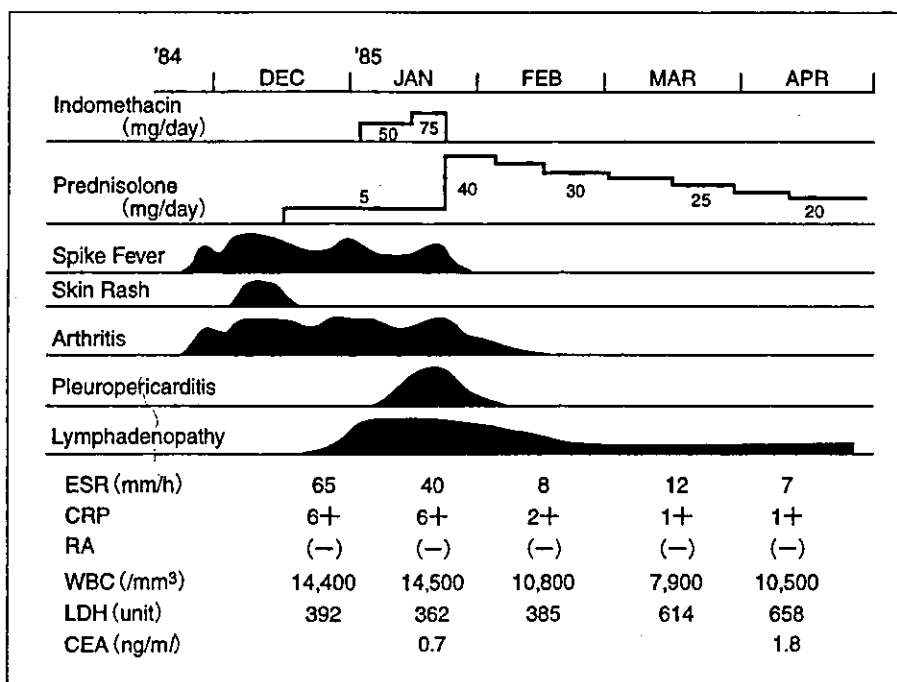


図2 成人発症Still病の臨床経過
副腎皮質ステロイドの投与により胸膜炎はすみやかに改善している。

は35%), 心エコー(ドプラー法)にて肺動脈収縮期圧の上昇などを証明することである。右心カテーテル検査は必ずしも必要ではない。肺生検による病理学的所見としては肺動脈の中膜の肥厚, 細小動脈の線維性肥厚などがみられる。治療としては, Padeらによると, 免疫抑制剤(cyclosporine 2.5mg/kg/day)および副腎皮質ステロイド(prednisone 60mg/day)の併用投与により, 症状, 検査所見などが改善している¹⁴⁾。これに対して, 全らの報告では, 副腎皮質ステロイドは肺高血圧症の進行を阻止するには至っていない¹³⁾。

4. 成人呼吸促迫症候群(ARDS)

成人発症Still病において, ARDSの合併についてはこれまでに10例が報告されている^{8)15)~23)}。表2に示すように, 年齢は17~71歳と幅広く, 男性2例, 女性7例(1例は不明)である。注目すべき点は, DICを合併している症例が8例と頻度が高い点である。

一般的なARDSの治療は, 低酸素血症に対して酸素投与(ほぼ全例が人工呼吸管理である), 水分管理(Swan-Ganzカテーテルにより, 平均肺動脈楔入圧18mmHg以下, 心係数2.2l/min/m²以上を

目標とする)などを行う。副腎皮質ステロイド投与に関してはARDS後期の肺線維化を防止する意味で投与される場合もあるが, その有効性には否定的な意見が多い。一方, 成人発症Still病に合併したARDSに対する治療をみても, 人工呼吸器管理による酸素化および循環動態の改善を図つつ, 薬物としては, 大量の副腎皮質ステロイド投与および免疫抑制剤投与がなされており, 驚くべきことに報告例のほとんどが改善している。これは, 成人発症Still病におけるARDSの発症においては, 免疫学的異常が中心的な役割を果たしていることを示唆するもので, この点で他の原因によるARDSと異なるものと考えられる。

ARDSの基本病態は肺微小血管の蛋白透過型肺水腫であり, これを惹起する細胞としては肺マクロファージおよび好中球が重要である。なんらかの原因で活性化された肺マクロファージからさまざまな炎症性サイトカイン(TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8)などが放出され, これにより肺の血管内皮細胞の活性化, 好中球の集積が起こる。集積した好中球より放出されるプロテアーゼや活性酸素などが血管内皮細胞の傷害をひき起こすと考えら

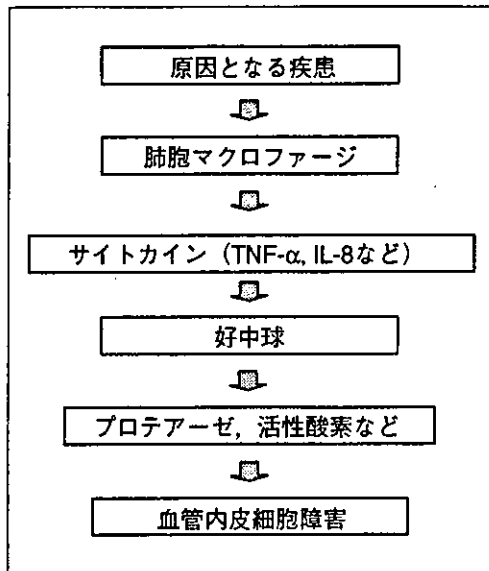


図3 ARDSの発症メカニズム

れる²⁴⁾。これら一連の過程が急激に起こることによりARDSの病態が確立すると考えられる(図3)。したがって、このARDSの病態においてはサイトカインが重要な役割を果たすことが推察される。

成人発症Still病についても活動期にIL-6やIL-18が上昇することが報告されており²⁵⁾²⁶⁾、本症の病態に高サイトカイン血症が重要な役割を果たすことが最近注目されている。成人発症Still病では、このような高サイトカイン血症によりマクロファージの活性化が惹起され血球貪食症候群をきたしたり、さらには好中球の活性化に伴う血管内皮

細胞の障害により、血管透過性亢進や微小循環傷害に加えて、血液凝固、線溶系の異常も加わり、DICへと進展すると考えられる。表2にあげたARDSの報告例をみると10例中8例にDICが合併していることから、成人発症Still病に合併するARDSにおいても高サイトカイン血症が関与する可能性が強く示唆される。事実、三戸らは、成人発症Still病にARDSを呈した症例においてIL-6、IFN- γ 、IL-1 β の上昇がみられたことを報告している²²⁾。彼らは大量の副腎皮質ステロイド投与とともにシクロスポリンも併用することで治療に成功している。したがって、成人発症Still病にARDSを合併した場合の治療として、副腎皮質ステロイドにシクロスポリンの併用を行うことは今後とも試みる価値があるものと考えられる。

おわりに

以上、成人発症Still病における肺合併症について概説した。近年、成人発症Still病の病態形成における高サイトカイン血症の重要性が認識されてきており、DICやHPSなどに加えて、ARDSもこうした高サイトカイン血症に基づく合併症と考えられる。今後、本症の病態生理の詳細が明らかにされることにより、肺病変の発症機序についても解明されるものと考えられる。

文 献

- 1) Bywaters EGL. Still's disease in the adult. Ann

表2 成人発症Still病に合併したARDS

No.	報告者(報告年)	年齢	性	DICの有無	原病活動性	治療	転帰(死因)
1	Hirohata(1986) ¹⁵⁾	65	女	(-)	(+)	Steroid pulse, cyclophosphamide	death (opportunistic infection)
2	Pouchot(1991) ⁸⁾	?		(+)	(+)	Steroid (high doseと記載)	alive
3	Pedersen(1991) ¹⁶⁾	40	男	(+)	(+)	Steroid (MPSL 1 g/day→ PSL 80mg/day), azathioprine	alive
4	Gibbs(1993) ¹⁷⁾	21	女	(+)	(+)	Steroid pulse	alive
5	横山(1995) ¹⁸⁾	71	男	(+)	(+)	Steroid (PSL 50mg/day)	alive
6	Iglesias(1999) ¹⁹⁾	29	女	(+)	(+)	Steroid pulse	alive
7	Shinohara(1999) ²⁰⁾	54	女	(+)	(+)	Steroid pulse	alive
8	Suleiman(2002) ²¹⁾	36	女	(-)	(+)	Steroid (量不明), methotrexate	alive
9	三戸(2002) ²²⁾	24	女	(+)	(+)	Steroid pulse, cyclosporine	alive
10	Manganelli(2003) ²³⁾	17	女	(+)	(+)	Steroid pulse, cyclosporine	death (multiple organ failure)

PSL : prednisolone, MPSL : methylprednisolone

- Rheum Dis 1971 ; 30 : 121.
- 2) Goldman JA, Beard MR, Casey HL. Acute febrile juvenile rheumatoid arthritis in adults : cause of polyarthritis and fever. *South Med J* 1980 ; 73 : 555.
 - 3) Calabro JJ, Londino AV. Adult onset Still's disease. *J Rheumatol* 1986 ; 13 : 827.
 - 4) Reginato AJ, Schumacher HR, Baker DG, et al. Adult onset Still's disease : experience in 23 patients and literature review with emphasis on organ failure. *Semin Arthritis Rheum* 1987 ; 17 : 39.
 - 5) Cush JJ, Medsger TA, Christy WC, et al. Adult-onset Still's disease : clinical course and outcome. *Arthritis Rheum* 1987 ; 17 : 186.
 - 6) Yamaguchi M, Ohta A, Tsunematsu T, et al. Preliminary criteria for classification of adult Still's disease. *J Rheumatol* 1992 ; 19 : 424.
 - 7) 山口雅也, 大田明英. 成人Still病. *日内会誌* 1991 ; 80 : 1771.
 - 8) Pouchot J, Sampalis JS, Beaudet F, et al. Adult Still's disease : manifestations, disease course, and outcome in 62 patients. *Medicine (Baltimore)* 1991 ; 70 : 118.
 - 9) Cheema GS, Quismorio FP Jr. Pulmonary involvement in adult-onset Still's disease. *Curr Opin Pulm Med* 1999 ; 5 : 305.
 - 10) 陶山時彦, 横山喜恵. BAL・TBLBで肺病変を確認しえた成人発症Still病の1例. *日呼吸会誌* 1998 ; 36 : 545.
 - 11) Corbett AJ, Zizic TM, Stevens MB. Adult onset Still's disease with an associated severe restrictive pulmonary defect : a case report. *Ann Rheum Dis* 1983 ; 42 : 452.
 - 12) 下元博史, 今泉和良, 溝口健二, ほか. 重篤な肺病変を合併した成人Still病の1例. *日胸疾会誌* 1989 ; 27 : 1092.
 - 13) 全 明, 山下紀子, 上田美紀子, ほか. 成人Still病の経過中肺高血圧症を合併した1症例. *リウマチ* 1990 ; 30 : 45.
 - 14) Padeh S, Laxer RM, Silver MM, et al. Primary pulmonary hypertension in a patient with systemic-onset juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1991 ; 34 : 1575.
 - 15) Hirohata S, Kamoshita H, Taketani T, et al. Adult Still's disease with adult respiratory distress. *Arch Intern Med* 1986 ; 146 : 2409.
 - 16) Pedersen JE. ARDS—associated with adult Still's disease. *Intensive Care Med* 1991 ; 17 : 372.
 - 17) Gibbs CJ, Foord C, Lee HA, et al. Disseminated intravascular coagulation in adult-onset Still's disease with neurological, respiratory and hepatic sequelae. *Br J Hosp Med* 1993 ; 50 : 278.
 - 18) 横山雅子, 諏訪 昭, 篠沢妙子, ほか. 成人呼吸促進症候群および播種性血管内凝固症候群を合併した成人発症ステイル病の1例. *日臨免会誌* 1995 ; 18 : 207.
 - 19) Iglesias J, Sathiraju S, Marik PE. Severe systemic inflammatory response syndrome with shock and ARDS resulting from Still's disease : clinical response with high-dose pulse methylprednisolone therapy. *Chest* 1999 ; 115 : 1738.
 - 20) Shinohara T, Hidaka T, Matsuki Y, et al. Calcinosis cutis and intestinal pseudoobstruction in a patient with adult onset Still's disease associated with recurrent relapses of disordered coagulopathy. *Intern Med* 1999 ; 38 : 516.
 - 21) Suleiman M, Wolfowitz E, Boulman N, et al. Adult onset Still's disease as a cause of ARDS and acute respiratory failure. *Scand J Rheumatol* 2002 ; 31 : 181.
 - 22) 三戸克彦, 山上由理子, 水之江俊治, ほか. 急性呼吸促進症候群を合併した成人Still病の1例. *日呼吸会誌* 2002 ; 40 : 894.
 - 23) Manganelli P, Fietta P, Zuccoli P. Adult-onset Still's disease with respiratory distress syndrome, polyserositis and disseminated intravascular coagulation : a case with a fatal outcome. *Clin Exp Rheumatol* 2003 ; 21 : 139.
 - 24) 橋本 修, 小林朋子, 堀江孝志. 病態から見た分子診断 : 急性肺障害. *日内会誌* 2003 ; 92 : 50.
 - 25) Scheinberg MA, Chapira E, Fernandes ML, et al. Interleukin 6 : a possible marker of disease activity in adult onset Still's disease. *Clin Exp Rheumatol* 1996 ; 14 : 653.
 - 26) Kawashima M, Yamamura M, Taniai M, et al. Levels of interleukin-18 and its binding inhibitors in the blood circulation of patients with adult-onset Still's disease. *Arthritis Rheum* 2001 ; 44 : 550.

抗リボソーム抗体と全身性エリテマトーデス

廣畑俊成*

リボソーム由来の蛋白と反応する自己抗体のなかで、ribosomal acidic protein(P 蛋白)に対する抗体(抗 P 抗体)が SLE に特異性が高い。抗 P 抗体はループス精神病をはじめ、SLE の肝機能異常やループス腎炎の病態形成においても関与している可能性が示唆されている。近年、抗 P 抗体の認識するエピトープが、神経細胞・肝細胞・血管内皮細胞だけでなく、T リンパ球や単球の表面にも発現することが明らかになった。

はじめに

全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus : SLE)患者血清中にリボソームと反応する自己抗体が存在することが1967年 Schur¹⁾によって初めて報告された。近年になり、その対応抗原が明らかにされている。そのなかには ribosomal acidic phosphoprotein(P 蛋白), ribosomal small subunit protein(S 10), ribosomal large subunit protein(L 12)がある²⁾。このなかでも、P 蛋白に対する抗体(抗リボソーム P 抗体：抗 P 抗体)が近年特に注目を集めている。リボソーム P 蛋白は P 0(38 kDa), P 1(19 kDa), P 2(17 kDa)からなり、抗 P 抗体はこれら3つの抗原に共通して存在する C 末端 22 個のアミノ酸からなるエピトープを認識することがわかっている(図 1)^{3)~5)}。本稿では、抗 P 抗体の臨床的意義、

病態との関係などについて最近の進歩をふまえて概説したい。

1. 臨床的意義

1) SLE と抗 P 抗体

抗 P 抗体は SLE に特異性が高く、他の疾患ではほとんど陽性とならない(図 2)⁶⁾。強皮症にて陽性例がみられることが報告されているが、その頻度は 0.3%程度であり⁷⁾、しかも陽性例のほとんどが SLE との重複症例であった⁷⁾。したがって、抗 P 抗体の出現は、抗 Sm 抗体や抗 DNA 抗体と同様に、SLE に特異的であると考えられる。抗 P 抗体の SLE 患者における陽性率は 12~16%といわれているが⁸⁾⁹⁾、わが国での検討例による陽性率が 28~40%と高い傾向があり²⁾⁹⁾¹⁰⁾、その出現頻度には人種差による遺伝的素因が影響することが示唆されている。

2) 抗 P 抗体とループス精神病

SLE に伴う精神神経病変(CNS lupus)には多彩な症状がみられる。このなかでとくに頻度の高いものが、高次脳機能の異常と痙攣である。高次脳機能の異常は一般的にはループス精神病(lupus psychosis)と称される。1987年に Bonfa¹¹⁾によ

【キーワード】
リボソーム
全身性エリテマトーデス
lupus psychosis
抗リンパ球抗体
血管内皮細胞

* HIROHATA Shunsei/帝京大学医学部内科

60S acidic ribosomal protein P0(L10E).

MPREDRATWKSNYFLKIIQLLDDYPKCFIVGADNVGSKQMQQIRMSLRGKAWLMGKNTM
MRKAIRGHLENNPALEKLLPHIRGNVGFVFTKEDLTEIRDMLLANKVPAARAGAIAPCE
VTVPAQNTGLGPEKTSFFQALGITTAKISRGTIIEILSDVQLIKTGDKVGASEATLLNMLNI
SPFSFGLVIQQVFDNGSIYNPEVLDITEETLHSRFLGVRNVASVCLQIGYPTVASVPHS
IINGYKRVLALSVETDYTFPLAEKVKAFLADPSAFVAAAPVAAATTAAPAAAAAPAKVEA
KEESEESDEDMGFGLFD

60S acidic ribosomal protein P2.

MRYVASYLLAALGGNSSPSAKDIKKILDSVIEADDDRLNKVISELNGKNIEDVIAQGIG
KLASVPAGGAVAVSAAPGSAAPAAGSAPAAAEKKEDEKKEESEESDDDDMGFGLFD

図 1. リボソーム P 蛋白(P 0, P 2)の 22 アミノ酸配列

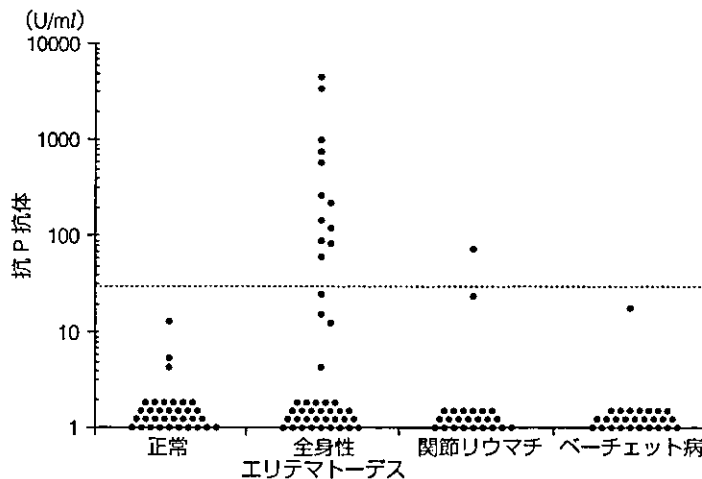


図 2. 各種疾患における血清抗 P 抗体 (一志邦夫ほか, 1997⁹⁾より引用)

り抗 P 抗体がループス精神病と相関することが報告され注目を集めたが、その後反対の見解を示す報告者もあり一定の見解が得られていなかった¹²⁾。報告者によりループス精神病と抗 P 抗体との相関についての見解が一致しないのは、リボソーム P 抗原の純度に起因する可能性が十分に考えられる。事実、抗 P 抗体とループス精神病とのあいだに相関を認めたとする報告¹³⁾では抗原の純度が高く (95~99%)、相関を認めないとする報告では純度の低い抗原を使用している傾向がみられている¹³⁾。われわれはこの点を検証するために、純度 99% 以上のリボソーム P ペプチドをヒト血

清アルブミンに結合したものを抗原としたサンドイッチ ELISA 法による抗 P 抗体の測定法を確立し、この測定法を用いて SLE 患者 75 例 (中枢神経病変非合併 SLE 26 例、ループス精神病 28 例、非精神病性中枢神経ループス 21 例) の血清中抗 P 抗体を測定した。その結果、ループス精神病では中枢神経病変非合併 SLE、非精神病性中枢神経ループスに比べ有意に血清抗 P 抗体の上昇を認めた (図 3)¹⁰⁾。したがって、抗 P 抗体とループス精神病との関連が報告者によって異なる 1 つの原因としてリボソーム P 抗原の純度が関連する可能性が確認された。

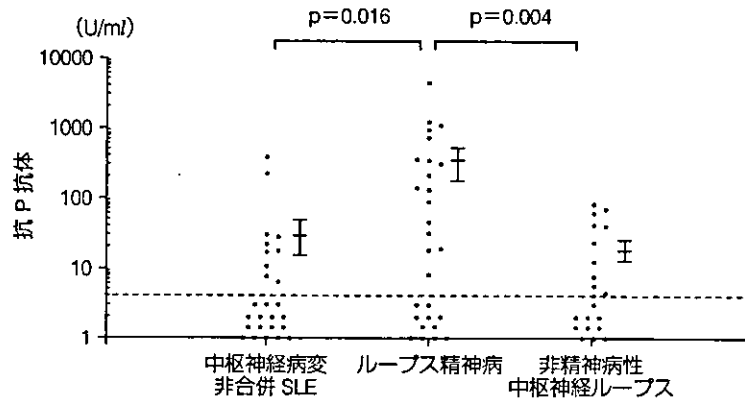


図 3. CNS ループスにおける血清抗 P 抗体 (Issshi, K. *et al.*, 1996¹⁰⁾より引用) ループス精神病 (lupus psychosis) においては他群にくらべ血清中抗 P 抗体の有意な上昇がみられる。

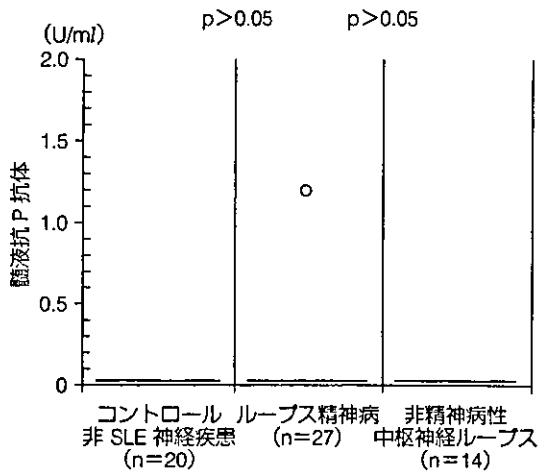


図 4. CNS ループスにおける髄液抗 P 抗体 (Issshi, K. *et al.*, 1998¹⁰⁾より引用) 髄液中には抗 P 抗体はほとんどの例で検出できなかった。

髄液中ではほとんど検出されない(図 4)¹⁴⁾。対照的に、血清の抗神経細胞抗体には中枢神経ループスの有無とは何の相関もないが、髄液中においてはループス精神病で特異的に上昇していることが明らかになった(図 5)¹⁴⁾¹⁵⁾。中枢神経ループスにおいては中枢神経内での免疫グロブリン産生の亢進を認めることから、この髄液中の抗神経細胞抗体の上昇は中枢神経内での産生亢進に起因すると考えられる。ループス精神病患者の髄液中では、インターフェロン(IFN)- α やインターロイキン(IL)-6の上昇が認められ、この IFN- α や IL-6 は患者の中枢神経内の神経細胞によって産生されているという¹⁶⁾¹⁷⁾。したがって何らかの機序で中枢神経内で産生された抗神経細胞抗体が神経細胞に対して作用することにより、IFN- α や IL-6 の産生亢進に反映されるような神経細胞の機能異常が惹起され、中枢神経ループスの発症に至るのではないかという仮説が成り立つわけである。

抗 P 抗体の存在はループス精神病の診断に有用であると考えられるが、抗 P 抗体が血清中より消失しない段階でも精神症状に著明な改善がみられることがあり、逆に、症状増悪時に必ずしも血清抗 P 抗体の上昇が認められないこともある。一方、抗 P 抗体はループス精神病患者であっても

3) 抗 P 抗体とその他の臨床症状

ループス精神病以外に、抗 P 抗体が SLE に起因する肝障害や腎炎の発症に関与することが示唆されている¹⁸⁾¹⁹⁾。とくに、ループス腎炎の患者の腎抽出液中には血清にくらべ 30 倍以上の高濃度の

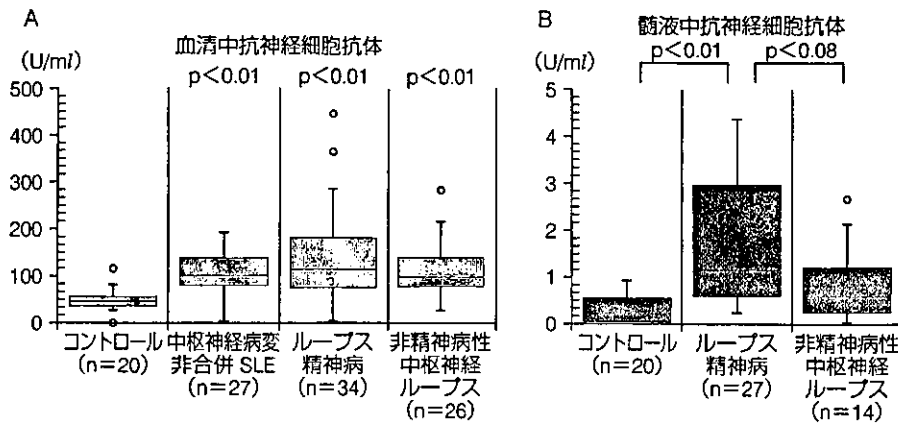


図 5. CNS ループスにおける血清および髄液抗神経細胞抗体 (Isshi, K. *et al.*, 1998¹⁴⁾より引用)
 A: 血清中抗神経細胞抗体は各種中枢神経症状の有無にかかわらず, SLE 患者で上昇していた。P 値はコントロールとの比較により求めた。
 B: ループス精神病 (lupus psychosis) においては他群にくらべ, 髄液中抗神経細胞抗体の有意な上昇がみられた。

抗 P 抗体が含まれていることが示され, これにより抗 P 抗体もループス腎炎の発症に寄与する可能性が考えられる¹⁹⁾。

2. 抗 P 抗体の病態との関係

1) 抗 P 抗体の認識するエピトープの発現

リボソームそのものは細胞質に存在するために, 抗 P 抗体が細胞質のリボソームをターゲットとしていることは考えにくい。これまでの研究により抗 P 抗体の認識するエピトープが種々の細胞の表面に発現されていることが明らかになった。これらは, 肝細胞癌由来細胞, 神経芽細胞腫細胞, 線維芽細胞, 血管内皮細胞である²⁰⁾。ウェスタンブロットによる解析では, これらの細胞表面に発現しているのは 38 kDa のリボソーム P0 蛋白であることが明らかになっている²⁰⁾。今後, 抗 P 抗体がこれらの細胞の機能に及ぼす影響について検討してゆくことが病態形成における役割を解明するうえで重要である。

2) 抗リンパ球抗体としての抗 P 抗体

以前より SLE 患者においては, IgM および

IgG 型の抗リンパ球抗体が発現し, その抗体価は SLE の免疫異常とよく相関することが指摘されてきた²¹⁾。われわれは, ヒト末梢血リンパ球の表面上に抗 P 抗体の認識するエピトープ (リボソーム P エピトープ) が発現するか否かについて, フローサイトメトリーにて検討をおこなった。その結果, 末梢血 CD4⁺T 細胞, CD8⁺T 細胞, B 細胞は, いずれも無刺激の状態ではリボソーム P エピトープを発現していなかった。しかし, 固相化抗 CD3 抗体で活性化すると, CD4⁺T 細胞と CD8⁺T 細胞はいずれもリボソーム P エピトープを発現した (図 6)²²⁾。これに対して, B 細胞は, 抗 CD3 抗体刺激 T 細胞あるいは *Staphylococcus aureus* + IL-2 のいずれによって活性化した後もリボソーム P エピトープを発現しなかった。さらに, これに一致して, 抗 P 抗体はヒト T 細胞由来の Jurkat とは反応するもののヒト B 細胞由来の Ramos とは反応しなかった (図 7)²²⁾。したがって, SLE において抗 P 抗体は活性化 T 細胞に結合し, その機能に影響を及ぼしていることが示唆される。一方, 活性化したヒト末梢血単球やヒト単球由来の THP-1 細胞表面にもリボソーム P

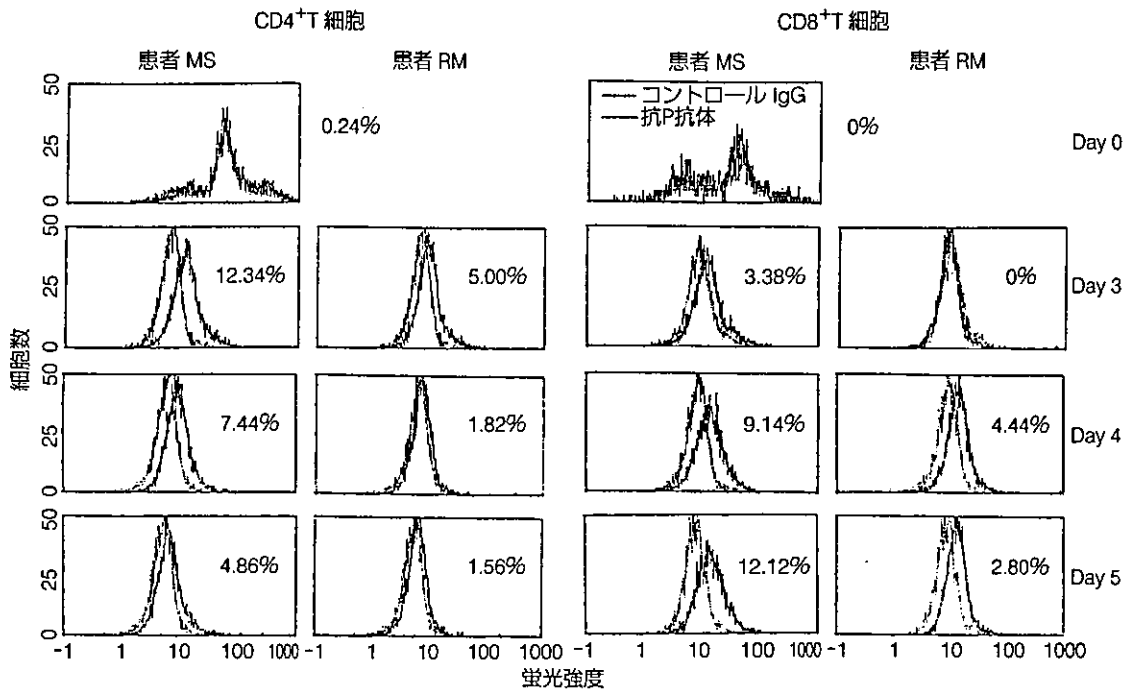


図 6. ヒト末梢血 CD 4⁺ T 細胞および CD 8⁺ T 細胞表面上のリボソーム P エピトープの発現(Hirohata, S. *et al.*, 2001²²⁾より引用)
 CD 4⁺ T 細胞および CD 8⁺ T 細胞いずれにおいても、固相化抗 CD 3 抗体刺激によりその表面上にリボソーム P エピトープの発現が誘導された。

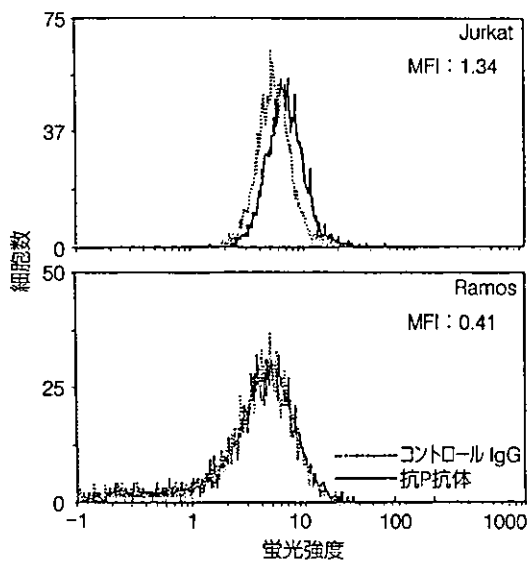


図 7. ヒト T 細胞株 Jurkat とヒト B 細胞株 Ramos 表面上のリボソーム P エピトープの発現(Hirohata, S. *et al.*, 2001²²⁾より引用)

エピトープが発現していることが最近確認された。今後、抗 P 抗体がこうした“抗リンパ球抗体”として、SLE の免疫異常の形成において、いかなる役割を果たしているかを解析することが、抗 P 抗体の病態形成における役割の解明にとって重要であると考えられる。

3. 抗 P 抗体産生のメカニズム

他の自己抗体の産生機序と同様に、抗 P 抗体の産生機序についても現在のところ不明である。In vitro で健常人の B 細胞を固相化抗 CD 3 抗体刺激細胞を用いて多クローン性に活性化すると IgM 型の抗 DNA 抗体が産生されるが、IgG 型の抗 DNA 抗体は産生されない。しかしながら、こうした培養系においては、抗 P 抗体は IgM 型も IgG 型も産生されない。この点で抗 DNA 抗体の産生メカニズムとは大きく異なっていると考えら

れる。おそらくは、抗 P 抗体産生前駆細胞のクローンサイズは抗 DNA 抗体とくらべてきわめて小さいことが考えられる。一方、これまで抗 RNP 抗体陽性の患者の末梢血においては U1-snRNP 蛋白に対する CD4⁺T 細胞の増殖反応が亢進していることが示されている。Crow ら²³⁾は、SLE の患者のうち抗 P 抗体陽性の患者の末梢血 CD4⁺T 細胞のリボソーム P2 蛋白に対する増殖反応も亢進していることを明らかにした。したがって、抗 P 抗体の産生は多クローン性 B 細胞活性化ではなく、抗原特異的反応に起因するものと考えられる。

おわりに

以上、抗 P 抗体の臨床的意義および SLE の病態形成において果たす役割などについて、最近の知見を交えて概説した。とくに、抗 P 抗体の抗リンパ球抗体としての役割は、SLE の根底に存在する免疫異常のメカニズムを考えるうえでも注目される。さらに、リボソーム P エピトープがいかなる機序で細胞表面に発現され、いかなる機能を担っているのかを今後解明してゆく必要がある。

文 献

- 1) Schur, PH. *et al.* : Precipitating antibodies to ribosomes in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Immunohistochemistry* 4 : 447-453, 1967
- 2) Sato, T. *et al.* : Autoantibodies against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J. Rheumatol.* 18 : 1681-1684, 1991
- 3) Elkon, KB. *et al.* : Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. *J. Exp. Med.* 162 : 459-471, 1985
- 4) Van Agthoven, AJ. *et al.* : Structure and phosphorylation of an acidic protein from 60 S ribosomes and its involvement in elongation factor-2 dependent GTP hydrolysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 77 : 989-998, 1977
- 5) Elkon, K. *et al.* : Identification and chemical synthesis of a ribosomal protein antigenic determinant in systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 : 7419-7423, 1986
- 6) 一志邦夫ほか : 固相化酵素抗体法による血清抗リボソーム P 抗体の測定. *臨床病理* 45 : 1177-1181, 1997
- 7) Fujimoto, M. *et al.* : Detection of antiribosomal P protein antibodies in patients with systemic sclerosis. *Br. J. Rheumatol.* 34 : 908-911, 1995
- 8) Bonfa, E. *et al.* : Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis Rheum.* 29 : 981-985, 1986
- 9) Nojima, Y. *et al.* : Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 51 : 1053-1055, 1992
- 10) Isshi, K. *et al.* : Association of anti-ribosomal P antibodies with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 39 : 1483-1490, 1996
- 11) Bonfa, E. *et al.* : Association between lupus psychosis and anti ribosomal P protein antibodies. *N. Engl. J. Med.* 317 : 265-271, 1987
- 12) Teh, LS. *et al.* : Antiribosomal P protein antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 37 : 307-315, 1994
- 13) Derksen, RH. *et al.* : A prospective study on antiribosomal P protein in two cases of familial lupus and recurrent psychosis. *Ann. Rheum. Dis.* 49 : 779-782, 1990
- 14) Isshi, K. *et al.* : Differential roles of the antiribosomal P antibody and antineuronal antibody in the pathogenesis of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 41 : 1819-1827, 1998
- 15) Bluestein, HG. *et al.* : Cerebrospinal fluid antibodies to neuronal cells : association with neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 70 : 240-246, 1981
- 16) Hirohata, S. *et al.* : Elevated levels of interleukin-6 in cerebrospinal fluid from patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system involvement. *Arthritis Rheum.* 33 : 644-649, 1990
- 17) Shiozawa, S. *et al.* : Interferon-alpha in lupus