

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

混合性結合組織病に関する研究

—混合性結合組織病の病態、治療と関連する遺伝的因子、自己抗体の研究—

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 近藤啓文

平成17(2005)年3月

目 次

[I] 総括研究報告

- 混合性結合組織病の病態、治療と関連する遺伝的因子、自己抗体の研究 1
近藤 啓文（北里大学医学部内科）

[II] 分担研究報告

1. 抗 U1RNP 抗体陽性症例のプロスペクティブ多施設共同研究 -MCTD 診断の手引きの検証- 7
岡田 純（北里大学医学部内科）
2. 抗 U1RNP 抗体陽性症例のプロスペクティブ多施設共同研究 -HLA との関連 11
岡田 純（北里大学医学部内科）
3. U1RNP 蛋白核酸複合体細胞内取り込みによる樹状細胞活性化に関する研究 15
三崎 義賢（東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科）
4. MCTD の発症機構と 53BP2 によるアポトーシス誘導機構 18
岡本 尚（名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物学）
5. U1-snRNP・A 遺伝子の Single Nucleotide Polymorphism (SNP) 解析（3 年間のまとめ） 22
大久保光夫（埼玉医大総合医療センター輸血・細胞治療部）
6. 抗 RNP 抗体とマンノース結合レクチンの関連に関する研究 26
堤 明人（筑波大学大学院人間総合科学研究科応用先端医学専攻臨床免疫学）
7. 肺高血圧症を有する抗 U1RNP 抗体陽性患者 IgG の肺動脈血管内皮細胞に及ぼす影響 30
三森 経世（京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学）
8. U1 RNA/70 kDa 蛋白複合体とマウスレトロウイルス p30^{gag} と相同性を有する
70kDa 合成ペプチドを認識する抗 U1 RNP 抗体の臨床像の比較検討 34
高崎 芳成（順天堂大学医学部膠原病内科）
9. 抗 U1-RNP 抗体陽性膠原病患者における唾液中抗 U1-RNP 抗体の免疫グロブリンクラス別測定 38
青塚 新一（国立国際医療センター研究所）
10. 抗血管内皮細胞抗体(AECA)による血管内皮細胞(EC)活性化機序の検討 47
吉尾 卓（自治医科大学アレルギー膠原病学部門）
11. Prostaglandin E₂ による Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1)
の発現制御に関する研究 51
北里 英郎（北里大学医療衛生学部微生物学）
12. 混合性結合組織病合併肺高血圧症の自然経過に関する研究 55
吉田 俊治（藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科）
13. 肺高血圧症合併混合性結合組織病 (MCTD) における NOS2 遺伝子多型の関与 59
原 まさ子（東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター）
14. 混合性結合組織病 (MCTD) における
抗 phosphatidylserine-prothrombin 複合体 (PS/PT) 抗体の検討 64
吉田 俊治（藤田保健衛生大学医学部リウマチ・感染症内科）
15. 膠原病性肺高血圧 (CPH) に対するエポプレステノール (EPO) 療法の
有効性と安全性に関する研究 68
諏訪 昭（慶應義塾大学医学部内科）
16. 膠原病合併肺高血圧症治療ガイドライン (案) 74
近藤 啓文（北里大学医学部内科）

- [III] 研究成果の刊行に関する一覧表 79

- [IV] 平成 16 年度班会議プログラム 87

- [V] 平成 16 年度分担研究者名簿 89

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

Contents

1. MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF CASES WITH ANTI-U1RNP ANTIBODY - Re-evaluation of MCTD Criteria -	10
Jun Okada (Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
2. MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF CASES WITH ANTI -U1RNP ANTIBODY - Association with HLA and clinical manifestations of disease-	14
Jun Okada (Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine)	
3. INTRACELLULAR INGESTION OF U1RNP COMPLEX INDUCES TYPE I INTERFERON PRODUCTION AND MATURATION IN DENDRITIC CELLS	17
Yoshikata Misaki (Department of Allergy and Rheumatology, University of Tokyo School of Medicine)	
4. PROAPOPTOTIC ACTIONS OF 53BP2 AND POSSIBLE PATHOGENESIS OF MCTD	21
Takashi Okamoto (Department of Molecular and Cellular Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)	
5. Comparison of SNPs frequency of U1-snRNP · A gene between healthy donors and patients with anti-RNP autoantibody	25
Mitsuo Okubo (Transfusion Medicine & Cell Therapy, Saitama Medical School)	
6. ASSOCIATION BETWEEN ANTI-RNP ANTIBODIES AND MANNOSE BINDING LECTIN	29
Akito Tsutsumi (Division of Clinical Immunology, Major of Advanced Biomedical Applications, Graduate School of Comprehensive Human Science, University of Tsukuba)	
7. THE STIMULATORY EFFECTS OF PURIFIED IgG FROM SERA IN ANTI-U1 RNP ANTIBODY-POSITIVE PATIENTS WITH SYSTEMIC RHEUMATIC DISEASES ON HUMAN PULMONARY ARTERIAL ENDOTHELIAL CELLS	33
Tsuneyo Mimori (Department of Rheumatology and Clinical Immunology Kyoto University Graduate School of Medicine)	
8. CLINICAL SIGNIFICANCE OF ANTI-U1 RNP ANTIBODIES RECOGNIZING THE CONFROMATION-STRUCTURE ON U1 RNA/70 kDa PROTEIN COMPLEX AND AMINO ACIDS SEQUENCE HOMOLOGOUS TO RETROVIRAL p30 ^{gag} ANTIGEN	37
Yoshinari Takasaki (Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University School of Medicine)	
9. DETECTION OF ISOTYPE-SPECIFIC AUTOANTIBODIES AGAINST U1-RIBONUCLEOPROTEIN IN SALIVA OF CONNECTIVE TISSUE DISEASE PATIENTS WITH SERUM AUTOANTIBODIES AGAINST U1-RIBONUCLEOPROTEIN	46
Shinichi Aotsuka (Division of Clinical Immunology, Clinical Research Institute, International Medical Center of Japan)	
10. ANTIENDOTHELIAL CELL ANTIBODIES ACTIVATE ENDOTHELIAL CELLS THROUGH NUCLEAR FACTOR-KAPPA B ACTIVATION IN VITRO	50
Taku Yoshio (Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Department of Medicine, Jichi Medical School)	

11. A ROLE OF TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1 IN ARTICULAR INFLAMMAION WITH MCTD OR RA	54
Hidero Kitasato (Department of Microbiology, Kitasato University School of Medicine)	
12. STUDY ON THE NATURAL COURSE OF PULMONARY HYPERTENSION COMPLICATED WITH MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASE	58
Shunji Yoshida (Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine)	
13. Association of <i>NOS2</i> gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary arterial hypertension with collagen diseases	63
Masako Hara (Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University)	
14. STUDY ON ANTI-PHOSPHATIDYLSERINE-PROTHROMBIN COMPLEX ANTIBODIES IN MIXED CONNECTIVE TISSUE DISEASES	67
Shunji Yoshida (Department of Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine)	
15. EPOPROSTENOL THERAPY ON PULMONARY HYPERTENSION SECONDARY TO CONNECTIVE TISSUE DISEASES	73
Akira Suwa (Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine)	

[I]

總括研究報告

混合性結合組織病の病態、治療と関連する遺伝的因子、自己抗体の研究

主任研究者：近藤啓文 北里大学医学部内科 診療教授

研究要旨

混合性結合組織病（MCTD：mixed connective tissue disease）は抗U1RNP抗体を必須の自己抗体とする疾患であるが、その疾患特異性は必ずしも高くない。本抗体の臨床的意義とMCTDとの関連をプロスペクティブに明らかにするために、平成11年度より班のプロジェクト研究として抗体陽性無治療例188症例を登録してきた。本年度は新しい研究課題による3年間の研究の3年度にあたるが、既登録症例について経過観察の調査票の回収、血清の集積を行なった。臨床症状、検査所見、自己抗体、HLAのDNAタイピングを含むデータベースを充実させた。本年度は抗U1RNP抗体などの抗核抗体の施設間の不一致を無くすため、142例を一括して班事務局で測定した。

142例をMCTD診断基準を用いて2群、診断例82例と非診断例60例に分類した、両群の臨床症状を比較したところ、手指硬化などSSc様病変、筋力低下などPM/DM様病変はMCTD群に有意に多かったが、SLE病変には両群で有意差が無かった。経過観察中に各コンポーネントとも10～20%増加した。一方、抗Sm抗体、抗DNA抗体の有無は本症の診断に影響しなかった。HLA DNAタイピングは162例についてHLADRB1/HLADQB1抗原で行われた。アレル頻度でDQB1*0402が抗体陽性患者で有意の低頻度であった。予後を決する重要病変である肺高血圧症（PH）をMCTDの診断基準に中核症状として組み入れることを決定した。そこで従来共通所見の2症状を加えて3症状を中核所見と名称を変更して1項目とした（表1）。この改訂は患者の診断には影響しなかった。なお、今回の改定で、診断の手引きから診断の基準に変更した。

本抗体の産生機序とその制御の解明はMCTDの根本的な治療法の開発につながる。U1RNA、U1A、U1RNPを樹状細胞内に導入すると細胞が活性化される機序が解明された（三崎）。MCTDの発症過程に自己反応性リンパ球のアポトーシスによる排除機構の関与が検討された（岡本）。

MCTDあるいは抗U1RNP抗体と関連する遺伝子異常の研究を班で構築したデータバンクを用いて研究する体制が出来上がった。その結果、抗U1RNP抗体の主な抗原であるU1-snRNP・AのSNPを抗体陽性症例と健常人で比較し、陽性者に有意に多いSNPが認められた（大久保）。抗U1RNP抗体の役割についての研究が行われた。In vitroの研究であるが、PHの発症に関与する可能性が三森により示された。高崎は抗U1RNP抗体の新しいエピトープを検出し、それに反応する患者の病像の特徴を報告した。MCTD病態と関連する血管内皮細胞（EC）活性化の機序の研究（吉尾）、関節炎を増悪する新しい機序としてTREM-1を通してTNF α などを産生する機序（北里）が報告された。

MCTDに合併するPHの臨床研究として、新しい班プロジェクト研究が発足した（吉田）。PH疑い例の経過観察で、心エコー検査によるPH診断は推定収縮期圧40mmHg以上とする妥当性が支持された。

原はMCTD合併PH例における一酸化窒素の合成酵素（NOS-2）の遺伝子多型を解析し、PH合併例では転写調節領域と考えられる2ヶ所に遺伝子多型が認められた。PHの発症に関与している可能性が示唆された。MCTDを含む膠原病に合併するPHの治療薬として持続静注プロスタサイクリン製剤（フローラン）が承認され、諏訪は、膠原病合併PHの12例の治療経験を報告した。最近、エンドセリンレセプター拮抗薬（ボセタン）も承認され、PHの治療が新しい時代に入った。MCTDを含む膠原病合併PH（主に肺動脈性PH）の治療ガイドライン（案）を厚生科学研究、「免疫疾患の合併症とその治療法に関する研究班（橋本班）」及び「全身性自己免疫疾患における難治性病態の診断と治療法に関する研究班（三森班）」と共同で提案した。

3年間のこの班の治療研究をまとめる意味で、9年前に東條班で作成したMCTD治療指針をエビデンスに基づいた改定を試み、治療ガイドラインとして小冊子を発行する。

班の構成

分担研究者

三崎 義堅
東京大学医学部附属病院内科 講師
三森 経世
京都大学大学院医学研究科臨床免疫学 教授
高崎 芳成
順天堂大学医学部膠原病内科 助教授
岡田 純
北里大学医学部内科 助教授
原 まさ子
東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター 教授
吉田 俊治
藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科 教授
大久保 光夫
埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部 助教授
青塚 新一
国立国際医療センター研究所 部長
吉尾 卓
自治医科大学内科学講座リウマチ・膠原病学部門 助教授
堤 明人
筑波大学臨床医学系 助教授

諏訪 昭

慶應義塾大学医学部内科 助手

岡本 尚

名古屋市立大学医学研究科細胞分子生物学 教授

北里 英郎

北里大学医療衛生学部微生物学 教授

研究協力者

塩沢 和子

(財)甲南病院加古川病院リウマチ科 副院長

山田 秀祐

聖マリアンナ医科大学リウマチ膠原病アレルギー内科 助教授

多田 芳史

佐賀医科大学内科 助手

岡野 哲郎

北里大学医療衛生学部臨床免疫学 講師

佐藤 俊彦

北里大学医学部衛生学公衆衛生学 助教授

村上 洋介

北里大学医学部微生物学 リサーチ・レジデント

(財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団)

A. 研究目的

本年度は3年間の研究の3年目にあたり、抗U1RNP抗体陽性無治療患者のプロスペクティブ研究に基づくMCTDの診断基準の改訂、関連する自己免疫機序と遺伝子の解析、PHの病態の解明と治療ガイドラインの検証を主目的に研究を行う。

1) 抗U1RNP抗体陽性患者のプロスペクティブ研究: 既に登録した本抗体陽性無治療例の経過観察とその調査票、血清、DNAを蓄積したデータバンクを作成する。調査票に基づくMCTD診断基準の見直し、併存抗体の意義を検討する。

2) 抗U1RNP抗体の産生機序の解明: MCTDは抗U1RNP抗体を発現する疾患であり、本抗体が日本人に高頻度であることがMCTDがわが国に多い理由であるとの仮説をたて、HLA抗原系の検索で明らかにしたい。

抗U1RNP抗体の産生機序を抗原をコードする遺伝子多型、樹状細胞の活性化など新しい免疫学的手法を用いて解明する。さらに、抗U1RNP抗体の病態との関連を検討する。

3) MCTD関連遺伝子解析: 患者からインフォームド・コンセントを得て採取されたDNAを用いて、MCTDの病態、とくにPHと関連する因子の遺伝子多型を検索し、その病因的意義を検討する。

4) MCTDにおけるPHの病態と治療: 新しく班の研究プロジェクトを立ち上げ、PHの頻度、早期診断、治療ガイドラインの検証を行う。PHの治療の進展に基づき治療ガイドラインを厚生労働省の他の研究班と共同で提案する。

5) MCTD治療ガイドラインを改訂し、発行する。

B. 研究方法

1) 抗U1RNP抗体陽性無治療例のデータバンク:班プロジェクト研究

分担研究者、及び研究協力者3名の合計14施設において、新たに見出した抗U1RNP抗体陽性無治療患者を登録し、その臨床経過を観察し、血清、HLA DNAタイピングなどをデータバンク化した。臨床経過調査票の解析と血清を免疫沈降法などの方法で測定した抗体のプロファイルを合わせて診断基準を再検討した。尚、HLA検索で残ったDNAは、新たに同意を得た上で保管し遺伝子研究に供する(各施設の倫理委員会で承認の上)。

2) 抗U1RNP抗体の産生機序の研究

- ① 樹状細胞を用いた研究
- ② 自己反応性アポトーシスと遺伝子
- 3) MCTDの自己抗体、遺伝子異常と関連する病態
 - ① RNP-A蛋白をコードする遺伝子SNP解析
 - ② マンノース結合レクチン(MBL)の遺伝子変異
 - ③ PH患者血清IgGの肺動脈内皮細胞に対する作用
 - ④ 抗U1RNP抗体の新しいエピトープと病型
 - ⑤ 唾液中の抗U1RNP抗体の意義
 - ⑥ 抗血管内皮細胞抗体の活性とその作用メカニズム
 - ⑦ マクロファージ表面TREM-1の炎症における役割
- 4) MCTDの肺高血圧症の臨床病態と治療研究:
 - ① 班プロジェクト研究としてMCTDにおけるPHの経過
 - ② MCTD合併PHにおけるPS/PT抗体
 - ③ MCTD合併PHにおける一酸化窒素の合成酵素(NOS-2)の遺伝子多型
 - ④ 膠原病合併PHにおける持続静注プロスタサイクリン製剤の治療成績
 - ⑤ MCTD合併PHの治療ガイドラインの共同提案
- 5) MCTD治療ガイドラインの改訂版の発行

C. 研究結果

1) 抗U1RNP抗体陽性無治療例のプロジェクト研究

抗U1RNP抗体の臨床的意義とMCTDとの関連をプロスペクティブに明らかにするために、班のプロジェクト研究として平成11年度より抗U1RNP抗体陽性無治療例188症例を登録し、6年目の平成16年に162例の臨床症状、検査所見、HLAのDNAタイピングを含むデータベースを作成した。血清を集積できたのは142例の血清を用いて抗U1RNP抗体、抗Sm抗体、抗DNA抗体などを集中して同一方法で測定した。抗体の

測定法には施設ごとにばらつきがあることが判明したからである。まず、現行のMCTDの診断機基準の臨床的な有用性を検討した。142例をMCTD診断基準を用いて2群、診断例82例と非診断例60例に分類した、両群の臨床症状を比較したところ、手指硬化などSSc様病変、筋力低下などPM/DM様病変はMCTD群に有意に多かったが、SLE病変には両群で有意差がなかった。症例の経過観察期間が短かったが、経過で症状が加わり、MCTD、SLE、SScなどの診断基準合致率は10~20%上昇した。一方、本症に頻度が高く予後を決定する病変であるPHは1例を除きMCTD群に入り、MCTD診断群で有意に頻度が高いことが判明した。そこで、PHを診断基準の中に組み入れることを検討し、PHと共通所見を中核所見とすることを提案した。一方、抗U1RNP抗体単独陽性群と抗Sm抗体、抗DNA抗体の併存群の比較では、抗体測定を事務局で一括測定した結果、これら抗体陽性例をMCTDから除外する意義は無いとの結論であった。

HLA DNAタイピングは、抗U1RNP抗体陽性例162例についてHLADRB1/HLADQB1抗原で行われた。対照例は埼玉医科大学で得られた健常人で抗核抗体陰性118例とした。HLADRB1アレル頻度では抗U1RNP抗体陽性例全体、MCTD診断例、非診断例のいずれの群でも対照群と有意差が見られなかった。ただ、DRB1*0405が抗U1RNP抗体の低値陽性群で有意に高頻度であった。一方、HLADQB1アレル頻度ではHLADQB1*0402が対照群と比べ、抗U1RNP抗体陽性例全体、MCTD診断例、抗U1RNP抗体高値陽性例で有意に低率であった。今後、これらの症例の経過を長期間みることにより、病像変化によって有意なHLA抗原が見出される可能性は否定できない。

2) 抗U1RNP抗体の産生機序:

本抗体の産生機序とその制御の解明はMCTDの根本的な治療法の開発につながる。研究班では各個研究で異なった方向から行なわれた。U1RNPの樹状細胞刺激能がU1RNA,U1Aと再構成されたU1RNPを細胞内に導入して検討された。するとU1RNAのみでもIFN α 、INF β の産生が非常に高まることが明らかになり、さらにIL-6、TNF、IL-12も軽度増加した。U1RNPが樹状細胞に取り込まれて細胞刺激活性を発揮して自己抗体産生機序に関連する可能性が示された(三崎)。

MCTDの発症に自己反応性リンパ球のアポトーシスによる排除障害が関連するとの仮説から、アポトーシス誘導遺伝子53BP2遺伝子によるアポトーシス機構が

とが明らかになった(岡本)。

3) MCTDの自己抗体、遺伝子異常と関連する病態:

大久保は抗U1RNP抗体の主な対応抗原であるU1-snRNP・A (RNPA) の遺伝子のSNPを抗体陽性者で解析した。抗体陽性者は①5'-UTRのアレル頻度は高く、ハプロタイプを形成、② Exon 6#1006のSNP C/Tのアレル頻度が有意に高い、③3'-UTRのSNP sはccttcあるいはccttt motivesの繰り返し部位に存在し、症例群の一部で繰り返しが少なかった。この配列はmRNA安定性に作用し、抗体産生の一因である可能性を示した。堤は自己免疫疾患との関連が示唆されているマンノース結合レクチン(MBL)の遺伝子多型を抗U1RNP抗体陽性膠原病患者で検索した。MBL遺伝子のアレル頻度、遺伝子型に差異が認められなかった。抗MBL抗体陽性者が3例認められ、間質性肺炎、PHを持つ例があり、病態との関連を考える上で興味深い。

三森は抗U1RNP抗体の病態形成に関与を、PH患者のIgGを用いて肺動脈血管内皮細胞(HPAE)に与える影響をin vitroで検討した。PH患者IgGのHPAEへの添加はsICAM-1分泌を増加した。この結果はPH患者IgGが何らかの役割をもつことを示唆したことから、今後の研究の進展が待たれる。

高崎は抗U1RNP抗体の9個の対応抗原のうち、新たな対応抗原としてU1RNA/70kDa蛋白複合体とマウスレトロウイルスp30^{env}と相同性を有する70kDa合成ペプチドに対する抗体をMCTD患者で見出した。前者の抗体陽性例(13例)と後者の抗体陽性例(73例)の臨床像を比較すると、前者はSLE様病態と後者は非SLE病態と相関した。抗U1RNP抗体陽性患者の唾液で同抗体を測定したところ、分泌型IgAの抗U1RNP抗体が存在することが判明した(青塚)。

抗血管内皮細胞抗体(AECA)による血管内皮細胞(EC)活性化の機序をNF κ Bの活性化によるかどうかをin vitroで検討した。AECAはECにおけるNF κ Bの核内移行をIL-1などを介さずに促進し、ECを活性化することが示された(吉尾)。北里はMCTDの関節炎を増悪する新しい機序として、マクロファージ表面のTriggering receptor expressed on myeloid cells-1(TREM-1)をPGE₂が誘導し、TREM-1を通してTNF α などを産生する機序を報告した。

4) MCTDの肺高血圧症(PH)の臨床病態と治療研究:

PHはMCTDで頻度が高く予後を決定する重要な病変である。PHに関する班内調査プロジェクト研究として、昨年度調査したMCTD合併PH 39症例の経過を

観測した。1年後に変化が見られたのは、心エコー検査で推定PA圧40mmHg以上の患者では悪化を認めた。この値は心エコー上PHと診断するのに良いカットオフ値であることが推定された。

原はMCTD合併PH例における血管拡張因子である一酸化窒素の合成酵素(NOS-2)の遺伝子多型を解析した。PH合併例では転写調節領域と考えられる2ヶ所の遺伝子多型が存在し、PH群(26例)と非PH群(89例)で発現頻度に差が認められた。この多型がNOS-2の転写調節を介してPHの発症に関与する可能性を示唆した。

吉田は抗リン脂質抗体抗体がPHの発症に関与する可能性を検討するため、抗phosphatidylserin-prothrombin複合体(PS/PT)抗体をMCTD合併PH例で測定した。PHにおける陽性頻度は非PH群と差がなかったが、PS/PT抗体価が高い群のPA圧が有意に高かった。PHの病態発現に関与する可能性が考えられた。

MCTDを含む膠原病に合併するPHの治療に持続静注プロスタサイクリン製剤(フローラン)が承認され、在宅で使用可能になった。諏訪は膠原病合併PHに対する本薬の治療成績を12例について報告した。基礎膠原病は強皮症4例、MCTD 3例などであったが、導入直後に3例死亡したが、6例は有効と判定された。重篤な副作用は無く、本薬の有用性が示された。

班として本症に合併するPHの治療ガイドライン(案)を厚生科学研究、「免疫疾患の合併症とその治療法に関する研究班(橋本班)」及び「全身性自己免疫疾患における難治性病態の診断と治療法に関する研究班(三森班)」と共同で提案した。

3年間のこの班の治療研究をまとめる意味で、9年前に東條班で作成したMCTD治療指針をエビデンスに基づいて改定を試み、治療ガイドラインとして小冊子を発行する。

D. 考察

MCTDはわが国では頻度が高く、特定疾患として確立した疾患単位である。しかし、疾患の定義には議論があるのも事実である。本研究班の第一の研究課題である抗U1RNP抗体陽性無治療例のプロスペクティブ研究は、単独陽性群と他の抗体併存群の経過を含めた差異を明らかにし、MCTDは抗U1RNP抗体単独陽性疾患とすべきか現行の診断基準のように他の抗核抗体(抗DNA抗体や抗Sm抗体)の併存を含めるかの議論

に決着をつけることが目的の1つであった。抗体測定
の施設間の偏りを考慮し、事務局に集積した142血清
で免疫沈降法を含めて測定したところ、他の併存抗体
の有無による臨床像の相違が少ないことが初めて明ら
かになった。現行の診断基準の変更は必要無いとの結
論であった。

次に、MCTD診断群と非診断群（UCTSと呼ぶこと
ができる）の臨床像の比較では、SSc、PM/DM様所
見はMCTD群で多いのに、SLE所見で両群に差異が認
められなかったことは、抗U1RNP抗体の相関する臨
床像とMCTDの関連を考える上、MCTDとUCTSの
差異を考える上で興味深い。今回の症例では、PHは1
例を除きMCTD診断群に入り、MCTDとPHの密接な
関連が示された。しかし、この診断基準にはPHが入
っていない。現行診断基準では共通所見として、レイノー
現象と指ないし手背の腫脹があるが、これにPHを加え
中核所見とする診断基準の改定を提案する（表1）。診
断基準にPHを加えてもMCTD診断合致例は1例増加
するだけであり、本症概念の基本骨格が変わらないこ
と、本症におけるPHの重要性を強調する点で正当性
のある診断基準の見直しであると考えている。このプロ
ジェクト研究は症例162例の臨床調査票、血清（現在142
例のみ）、DNAのデータバンクを構築した。今後も長
期間継続し、臨床経過を観察することが重要である。そ
れによって、MCTDの診断基準の見直しが必要になる
可能性があるからである。

抗U1RNP抗体の産生機序に関する研究では新しい
観点からのアプローチがみられたが、解明するところ
までには至っていない。しかし、抗体陽性患者で対応
抗原の一つRNPAをコードする遺伝子にSNPが有意に
多かったことは、抗体産生に遺伝的背景の関与を示唆
するものとして興味深い。抗U1RNP抗体の病態との
関連では、PHを呈する患者血清IgGに内皮細胞刺激活
性が認められ（三森）、その意義が示唆された。今後の
研究が期待される。

MCTDのPH合併例でNOS-2の転写調節領域にお
ける遺伝子多型の証明（原）は病態の発症に関与する可
能性を示唆した。遺伝子研究では、MCTDの症例数が
少ないので、班としてDNAを保管し、分担研究者の研
究に提供できるように倫理委員会で承認を得て、環境
の整備を行った。健常者コントロールについても、大
久保分担研究者の協力でDNAを同様に使用できるよう
な環境が整った。この班研究の意義は大きい。

MCTDの最も重要な臓器病変であるPHについて、そ

の経過をみるプロジェクト研究が平成15年度より発足
した。その治療反応性、経過をエコー検査によってみ
る研究で、今後の継続が期待される。PHの治療薬はと
してPGI₂製剤エボprostanoール、エンドセリンレセ
プター拮抗薬ボセンタンがわが国でも承認され、新し
い時代になった。本症を含む膠原病合併PHの病態は
原発性PHと類似した病態であることが判明し、肺動脈
性PH（PAH）と分類されるようになった。しかし、膠
原病PHはステロイド療法が有効である可能性があり、
PPHの治療とは異なった点である。本班はPHの治療
ガイドライン（案）を厚生科学研究、「免疫疾患の合併
症とその治療法に関する研究班（橋本班）」及び「全身
性自己免疫疾患における難治性病態の診断と治療法に
関する研究班（三森班）」と共同で提案した。

3年間の研究終了に際し、9年前に東條班で作成した
治療指針を改定して、治療ガイドラインとして発行す
る。先生方に利用していただき、少しでも全国のMCTD
患者さんの治療レベルが改善することを期待している。

E. 結論

- 1) 抗U1RNP抗体陽性無治療患者の調査票を解析し、
現行診断基準の検討を行なった。その結果、PHを中核
所見として診断基準に組み入れる改訂を行なった。
- 2) プロスペクティブ研究の成果として、抗U1RNP抗
体陽性患者のデータバンクが作成された。このデー
タバンクの充実の本症研究の進展に寄与することが期待
される。
- 3) 抗U1RNP抗体の対応抗原に有意なSNPが認めら
れ、抗体産生に遺伝的因子の関与が示唆された。
- 3) MCTDの重要、かつ高頻度にみられる臓器病変であ
るPHの発症に関連する遺伝子変異の解析が進展した。
- 4) 膠原病合併PHの治療に進展があり、他の班と共同
で治療ガイドライン（案）を提案した。
- 5) 本症の治療ガイドラインを改訂した。

F. 健康危機管理情報

MCTDに関連する情報はなかった。

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1. 混合性結合組織病診断基準 (2004 年改訂)

混合性結合組織病の概念:

全身性エリテマトーデス、強皮症、多発性筋炎などにみられる症状や所見が混在し、血清中に抗 U1RNP 抗体がみられる疾患である。

I. 中核所見

1. レイノー現象.
2. 指ないし手背の腫脹.
3. 肺高血圧症

II. 免疫学的所見

抗 U1RNP 抗体陽性.

III. 混合所見

A. 全身性エリテマトーデス様所見

1. 多発関節炎.
2. リンパ節腫脹.
3. 顔面紅斑.
4. 心膜炎または胸膜炎.
5. 白血球減少($4,000/\mu\text{l}$ 以下)または血小板減少($100,000/\mu\text{l}$ 以下).

B. 強皮症様所見

1. 手指に局限した皮膚硬化.
2. 肺線維症, 拘束性換気障害(%VC=80% 以下)または肺拡散能力低下(%DLco=70% 以下).
3. 食道蠕動低下または拡張.

C. 多発性筋炎様所見

1. 筋力低下.
 2. 筋原性酵素(CK)上昇.
 3. 筋電図における筋原性異常所見.
-

診断:

1. I の 1 所見以上が陽性.
 2. II の所見が陽性.
 3. III の A, B, C 項のうち, 2 項以上につき, それぞれ 1 所見以上が陽性.
- 以上の 3 項を満たす場合を混合性結合組織病と診断する.

付記:

1. 抗 U1RNP 抗体の検出は二重免疫拡散法あるいは酵素免疫測定法(ELISA)のいずれでもよい.
ただし, 二重免疫拡散法が陽性で ELISA の結果と一致しない場合には, 二重免疫拡散法を優先する.

[Ⅱ]

分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

抗 U1RNP 抗体陽性症例のプロスペクティブ多施設共同研究
-MCTD 診断の手引きの検証-

分担研究者：岡田 純 北里大学医学部内科助教授
研究協力者：近藤啓文 北里大学医学部内科
研究協力者：佐藤敏彦 北里大学医学部衛生学公衆衛生学
研究協力者：岡野哲郎 北里大学医療衛生学部

研究要旨

【目的】抗 U1RNP 抗体陽性例について、多施設でプロスペクティブ研究を行ってきたが、抗 U1RNP 抗体陽性例を用いて MCTD の診断基準を検証した。

【方法】MCTD 班の班員の施設で 1999 年 1 月より 2003 年 12 月の間に初診した患者のうち抗 U1RNP 抗体が陽性症例を対象とし、抗 U1RNP 抗体が陽性症例を対象に MCTD 診断基準の検討を行った。自己抗体の再現性を確認するため、血清の提出のあった 144 例を対象とし、2 重免疫拡散法および免疫沈降法、RIA にて測定した。抗 U1RNP 抗体が再検で IPP でも陰性であった 2 例は除外した。

【結果】抗 Sm 抗体は IPP の結果を基準として検討すると、ELISA は 15% で偽陽性となり、DID は半数が陰性で感度が低値であった。一方、抗 DNA 抗体は RIA で再検したが、各施設で陽性例となった症例は RIA では 76.2% が陽性で、30 単位以上の高値陽性は 35.7% であった。一方、陰性例では、RIA 6 単位以上を陽性とする 12% が陽性であるが、30 単位以上とすると 0% であった。したがって、抗 DNA 抗体は 30 単位以上が妥当と考えられた。以上より、MCTD の診断には抗 DNA 抗体および抗 Sm 抗体の陽性により MCTD をあえて除外する必要はないと思われた。

【結語】MCTD の診断の手引きに、肺高血圧症を診断基準の中核所見として加えることが、検討された。PH を加えた場合でも、MCTD と診断される症例は 1 例増えるのみで、診断基準の基本骨格は変わらず、MCTD の予後に重要な PH がより重視されることから、診断の手引きを変更することにした。さらに「診断の手引き」を「診断基準」と変更した。

A. 研究目的

MCTD は、診断基準は本邦では厚労省の MCTD 研究班にて検討され、提唱されてきた。MCTD の疾患概念をより明確にすることを目的に、多施設共同研究により、抗 U1RNP 抗体単独陽性例の臨床症状、検査成績、HLADR・DQ 抗原の検討を、1999 年から開始してきた。この結果を基に、現在の MCTD 診断の手引きの有用性を検討したので報告する。

B. 研究方法

1999 年 1 月より 2003 年 12 月の間に、共同研究対象

施設を初診した患者のうち抗 U1RNP 抗体が陽性症例を全例登録した。除外条件として：初診前 1 年以上の間ステロイド薬および免疫抑制薬服用歴のある患者とした。登録時に採血し、抗 U1RNP 抗体および関連した自己抗体の性状を免疫沈降法で確認し、HLA-DR/HLA-DQ を DNA タイピングにて測定した。登録された症例の臨床症状、検査成績、予後を調査票に基づき追跡調査を 1 年ごとに調査した。抗 U1RNP 抗体、抗 DNA 抗体、抗 Sm 抗体等は ELISA、2 重免疫拡散法 (DID)、免疫沈降法 (IPP) にて再検した。すなわち、抗 U1RNP 抗体、抗 Sm 抗体、抗 Jo-1 抗体、抗 Scl70 抗体はラット胸腺を

抗原とした2重免疫拡散法および免疫沈法を用いた。また、抗DNA抗体はRIAにて測定し、抗U1RNP抗体および抗Sm抗体はELISA(MBL社メスカップ)にて抗体価を測定した。

C. 研究結果

抗U1RNP抗体が陽性症例を対象にMCTD診断基準の検討を行った。自己抗体の再現性を確認するため、血清の提出のあった142例を対象とした。平均観察期間は2.371.4(0.5-6.4)年であった。抗U1RNP抗体、抗Sm抗体、抗Jo-1抗体、抗Scl70抗体、抗DNA抗体を再検した。抗U1RNP抗体が再検でIPPでも陰性であった2例は除外した。

抗Sm抗体および抗DNA抗体の診断基準における有用性検討した。抗Sm抗体はIPPの結果を基準として検討すると、ELISAでは15%で偽陽性となり、DIDは半数が陰性で低感度であった(表1)。MCTDの診断基準を満たす症例と非MCTD例では両者間で頻度に有意差は認めなかった。一方、抗DNA抗体はRIAで再検したが、各施設測定し陽性であった症例はRIAキットでは76.2%が陽性で、30単位以上の高値陽性は35.7%であった(図1)。一方、陰性例では、陽性基準では、6単位以上を陽性とする12%が陽性であるが、30単位以上とすると0%であった。したがって、抗DNA抗体の陽性基準は30単位以上が妥当であり、MCTDおよび非MCTD例でもその陽性率に有意の差はなかった。以上より、MCTDの診断には抗DNA抗体および抗Sm抗体の陽性によりMCTDをあえて除外する必要はないと思われる。しかし、今回は、抗U1RNP抗体陽性例での検討であるため、SLE、SScなどの症例を対照として検証する必要がある。

次に、MCTDの診断基準を用いて、MCTD診断例82と非診断例60にわけ臨床像および各膠原病の要素および診断基準満足の有無を検討した。レイノー現象は、単独群で91.7%と非単独群52.7%に比べ有意に多かった。また、SScに関連した手指に局限した皮膚硬化、肺線維症、肺拘束性障害、肺拡散能低下、食道蠕動運動低下がMCTD群で有意に多く、PMに関連した筋力低下、筋原性酵素、筋電図上の筋原性変化もMCTD群で有意に多かったが、SLEに関連した症状では、両群間で差はなかった(表2)。共通症状、SSc要素、PM要素、および肺高血圧症はMCTD群に有意に高率であった(表3)。そこで、MCTDの診断の手引きに、肺高血圧症(PH)を診断基準の中核症状として加えることが検討された。

PHを加えた場合でも、MCTDと診断される症例は1例増えるのみで、MCTDの予後に重要なPHがより重視されることから、診断の手引きの変更が提案された。

MCTDでは経過中に病像が変わることが指摘されて来たため、診断推移を検討した(図3)。SLE、SSc、PMの要素がそれぞれ10~20%増加した。また、SLEの診断基準を満足は32%から41%に増加し、SScも15%から20%へと軽度の増加が見られた。

D. 考察

抗U1RNP抗体陽性例の多施設プロスペクティブ研究¹の結果に基づいて、MCTD診断の手引きを検証した。自己抗体に関して、各施設により測定法が異なるため、データの均一性を保証するため、血清の提出が得られた症例で抗U1RNP抗体、抗Sm抗体、抗DNA抗体等を再検した。抗Sm抗体はIPPを基準とするとELISAは偽陽性が多く、DIDは逆に感度が低い経口がみられ、より感度がよく特異性の高い測定法の開発が待たれる。一方、抗DNA抗体は、RIAキットを用いた場合は、キットの健常人を対象とした基準値では、陽性例が多く、30単位以上の高値陽性が妥当と考えられた。これらの抗体の有無ではMCTD基準の満足度には差はなく、方法を信頼性の高い方法を用いれば、MCTDの診断に抗Sm抗体や抗DNA抗体の有無は診断の手引きへの影響は少ないと考えられた。

次に142例を対象にMCTDの診断基準^{2,3)}を検証した。抗U1RNP抗体陽性例中80例がMCTDの診断基準を満足した。MCTD症例では、SScおよびPM関連症状が、MCTD群で有意に多くが、SLEの症状は両群間で差はなかった。また、MCTD群でSLEおよびSScの診断基準を同時に満足する症例も見られたが、ごく少数であった。一方、肺高血圧症はMCTD群で有意に高率であった。PHの合併がMCTDの予後に重要であることは既に指摘されており⁴⁾、そのため、診断基準においても、PHがある場合には、診断基準を満たさなくても、MCTDを考慮するとした付記条件が付けられていた³⁾。しかし、今回の検討でもMCTD診断例にPH有意に多いことが確認され、PH重要性を強調するため、診断基準において、共通所見をレイノー現象、指ないし手背の腫脹に肺高血圧症を加え、これらを中核所見とすることを提唱することになった。しかし、今回は、MCTDの診断基準の検証において、対象とする疾患群が設定されていないため、今後、対照群を設定しさらに検証することが課題である。

文 献

1. 近藤 啓文, 岡田 純: 抗U1RNP抗体陽性症例の臨床経過に関するプロスペクティブ多施設共同研究. 平成11年度厚生省MCTD班研究報告書: 5,2000.
2. 箱川 禮司: 混合性結合組織病の手引き. 厚生省特定疾患混合性結合組織病調査研究班 昭和62年度研究報告書:515,1988.

3. 東條 毅: 混合性結合組織病診断の手引き(1996年改訂版). 厚生省特定疾患混合性結合組織病調査研究班平成7年度研究報告書 .3,1996.
4. 東條 毅, 秋谷久美子, 鳥飼勝隆, 他: 膠原病4疾患における肺高血圧症の頻度に関する全国疫学調査. 厚生省特定疾患混合性結合組織病調査研究班, 平成10年度報告書 .3,1999.

表1. 抗Sm抗体陽性率の測定法による比較

	免疫沈降法		合計	
	(+) N=35	(-) N=127		
施設(+)	25	31	56	感度= 71.4 特異性= 75.6
施設(-)	10	96	106	
ELISA(+)	18	16	34	感度= 87.4 特異性= 51.4
ELISA(-)	17	111	128	
DID(+)	16	3	19	感度= 45.7 特異性= 97.6
DID(-)	19	124	143	

表2. MCTD 診断例と非診断例の臨床像の比較

症状・検査	MCTD(82)	非MCTD(60)	P-value
レイノー現象	92.7	51.7	<0.0001
指ないし手の腫脹	86.6	26.7	
多発関節炎	76.8	58.3	
リンパ節腫脹	24.4	30	
顔面紅斑	19.5	26.7	
心膜炎	6.1	5	
胸膜炎	4.9	6.7	
白血球減少	52.4	58.3	
血小板減少	9.8	16.7	
手指に限局した皮膚硬化	64.6	10	<0.0001
肺線維症	29.3	8.3	0.004
肺拘束性障害	31.7	8.3	0.001
肺拡散能低下	39.0	13.3	0.0007
食道蠕動運動低下	29.3	8.3	0.004
近位部の皮膚硬化	11.0	5	
指尖潰瘍癒痕	12.2	3.3	
筋力低下	28.0	0	<0.0001
筋原性酵素	29.3	1.7	<0.0001
筋電図上の筋原性変化	29.3	10	0.001
Discoïd疹	6.1	3.3	
日光過敏症	6.1	15	
口・鼻潰瘍	8.5	8.3	
精神神経症状	1.2	5	
溶血性貧血	1.2	1.7	
尿蛋白0.5g以上	11	15	
細胞性円柱	7.3	11.7	
上眼瞼部浮腫	13.4	15	
関節背面の紅斑	14.6	16.7	
Sjögren 症候群	28.0	26.7	
リウマチ因子	38	47.9	
抗SSA抗体陽性	44.7	49.5	
抗Sm抗体陽性(IPP)	20	23.9	
抗DNA抗体陽性(>30IU/ml)	5.3	14.9	

表3. MCTD 診断例と非診断例の診断項目・基準の比較

診断項目	MCTD(82)	非MCTD(60)	P-value
共通症状	100	56.7	<0.0001
SLE要素あり	97.6	85	0.005
SSc要素あり	86.6	23.3	<0.0001
PM要素あり	53.7	10	<0.0001
SSc診断基準満足	28.4	9	0.006
PM診断基準満足	8.4	0	
SLE診断基準満足	35.8	47.8	
肺高血圧症	17.1	1.7	0.007

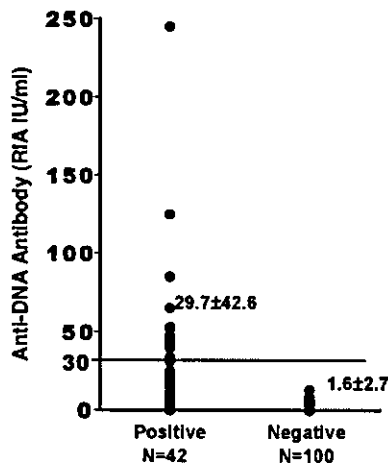


図1. 抗DNA抗体の各施設結果と抗体価

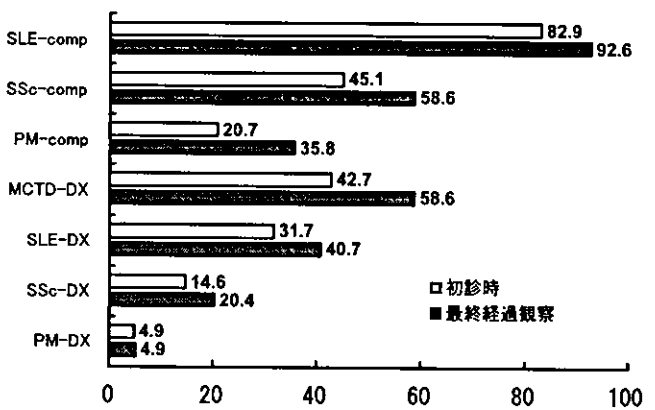


図2. 診断の推移

**MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF CASES WITH ANTI-U1RNP
ANTIBODY
- Re-evaluation of MCTD Criteria -**

Okada J¹⁾, Kondo H¹⁾, Sato T²⁾, and Okano T¹⁾

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine¹⁾, Department of Preventive Medicine and Public Health,
Kitasato University School of Medicine²⁾
Clinical Immunology, Kitasato University School of Allied Health Sciences³⁾
1-15-1, Kitasato, Sagamihara 228-8555 JAPAN

To clarify the clinical entity of MCTD, we conducted a multi-center prospective clinical study in patients with anti-U1RNP antibody. We re-examined the criteria of MCTD utilizing the patients who were enrolled in this study. The study included consecutive patients referred to the centers for evaluation of connective tissue diseases between January 1999 and December 2003. We intended to evaluate anti-nuclear antibody profiles using immuno precipitation method (IPP), double immuno diffusion method (DID), RIA and ELISA at time of start in this study.

One hundred forty two cases were used in this report. Anti-Sm antibody was examined using IPP, DID and ELISA. When the result of IPP is the golden standard, ELISA showed high false positive results (15%), and DID showed low sensitivity. In anti-DNA antibody, the positive result in each laboratory did not match the data by RIA method. RIA data showed 76% positive in the positive result by each laboratory. On the other hand, in the negative group, the titer of RIA more than 6 units was found 12 % positive and the titer of that > 30 unit was found 0%. Cut off point of RIA anti-DNA antibody was supposed to be 30 units.

The criteria of MCTD were re-evaluated. Pulmonary hypertension is the most important symptom-affecting prognosis of MCTD. We are planning to change "common symptoms" to "core symptoms" which are including Reynard's phenomenon, swollen hands and pulmonary hypertension.

抗U1RNP抗体陽性症例のプロスペクティブ多施設共同研究-HLAとの関連

分担研究者：岡田 純 北里大学医学部内科助教授

研究協力者：近藤啓文 北里大学医学部内科、

研究協力者：大久保光夫 埼玉医科大学総合医療センター輸血部・細胞治療部

研究協力者：岡野哲郎 北里大学医療衛生学部

研究要旨

【目的】抗U1RNP抗体陽性例について、多施設でプロスペクティブ研究を行ってきたが、抗U1RNP抗体陽性例を用いてMCTDの診断基準を検証した。

【方法】MCTD班の班員の施設で1999年1月より2003年12月の間に初診した患者のうち抗U1RNP抗体が陽性症例を対象とし、抗U1RNP抗体が陽性症例を対象にMCTD診断基準の検討を行った。自己抗体の再現性を確認するため、血清の提出のあった144例を対象とし、2重免疫拡散法および免疫沈法、RIAにて測定した。HLA DRB1 / HLA DQB1 抗原はDNAタイピングにて測定した。登録された症例の臨床症状、検査成績、予後を調査票に基づき追跡調査を1年ごとに調査した。抗U1RNP抗体、抗DNA抗体、抗Sm抗体はELISA、2重免疫拡散法、免疫沈降法にて再検した。HLAと臨床症状、自己抗体との関連を検討した。HLA健常人対照例は、埼玉医科大学にて得られた健常人で、抗核抗体陰性例118例を用いた。

【結果】HLAの測定を行った162例でHLA-DRB1、HLA-DQB1の頻度について解析した。HLA-DRB1/HLA-DQB1のアレル頻度を、対照群、抗U1RNP抗体陽性全例(162)、MCTD診断例(95)、MCTD非診断例(67)に分け検討した。対照群と有意差を認めたものはまったく認められなかった。DRB1*0101はMCTD群で23.4%と多い傾向がみられたが、有意差はなかった。DRB1*0405は、MCTD群とは差は見られなかったが、抗U1RNP抗体低値群(ELISA 50 index未満)では44.4%と対照群に比べ有意に高率で、抗体産生に抑制的に作用する可能性が推測された。DQB1では、DQB1*0402が対照群の14.4%に対して、抗U1RNP抗体陽性群全体、MCTD症例、抗U1RNP抗体高値群のいずれにおいても対照群に比べ有意に低率であった。

A. 研究目的

MCTDの自然歴や本疾患の中心的な自己抗体である抗U1RNP抗体陽性例の自然歴に関するいくつかの検討はあるが¹⁻⁴⁾、いずれもretrospectiveな検討で、対照試験も行われていない。そこで、MCTDの疾患概念をより明確にすることを目的に、多施設共同研究により、抗U1RNP抗体単独陽性例の臨床症状、検査成績、HLADR・DQ抗原を、1999年からプロジェクトを開始してきた⁵⁾。対照として、疾患特異性抗核抗体の共存を認める症例を用いる。この研究を通して本抗体とHLAとの関係を明らかにする。

B. 研究方法

共同研究施設12施設を対象とした。患者登録：1999年1月より2003年12月の間に、共同研究対象施設を初診した患者のうち抗U1RNP抗体が陽性症例を全例登録した。調査票に従って、症状、検査、治療歴を記入し登録する。登録時に採血し、HLA DRB1 / HLA DQB1 抗原をDNAタイピングにて確認した。登録された症例の臨床症状、検査成績、予後を調査票に基づき追跡調査を1年ごとに調査した。抗U1RNP抗体、抗DNA抗体、抗Sm抗体はELISA、2重免疫拡散法、免疫沈降法にて再検した。HLAと臨床症状、自己抗体との関連を検討する。HLA健常人対照例は、埼玉医科大

学にて得られた健常人で、抗核抗体陰性例 118 例を用いた。HLA DR/DQ の検索にあたっては、患者からの同意を文書にて取得した。

C. 研究結果

1999 年 1 月より 2003 年 12 月の間に、188 例の登録があり、調査票が回収されたが、その中で HLA の検査用の検体が提出されたものは 162 症例であった。MCTD 95 例で、SLE、SSc、PM-DM の診断基準をみたした症例は 66 例、33 例、8 例で、その他 UCTD、シェーグレン症候群などが 31 例であった。

次に、HLA の測定を行った 162 例で HLA-DRB1、HLA-DQB1 の頻度について解析した。

表 1 に HLA-DRB1 のアレル頻度を、対照群、抗 U1RNP 抗体陽性全例(162)、MCTD 診断例(95)、MCTD 非診断例(67)にわけ示した。同様に表 2 には HLA-DQB1 を示した。この中で、対照群と有意差を認めたものを表 3 に示す。DRB1*0101 は MCTD 群で 23.4% と多い傾向がみられたが、有意差は認められなかった。一方、DRB1*0405 は、MCTD 群とは差は見られなかったが、抗 U1RNP 抗体低値群(ELISA 50 index 未満)では 44.4% と対照群に比べ有意に高率で、抗体産生に抑制的に作用する可能性が推測された。DQB1 では、DQB1*0402 が対照群の 14.4% に対して、抗 U1RNP 抗体陽性群全体、MCTD 症例、抗 U1RNP 抗体高値群のいずれにおいても有意に低率であった。

D. 考察

抗 U1RNP 抗体陽性例の疾患の独立性を検証する目的で多施設プロスペクティブ研究を開始し⁵⁾、集積された 162 症例を対象に HLA の関連性を検討した。抗 U1RNP 抗体と HLA の関連では、強皮症の抗 U1RNP 抗体陽性例で、DRB1*0101-DQB1*0501 が多いことを報告しているが⁶⁾、本研究でも、やや多い傾向は見られたものの有意差は認められなかった。DRB1*0405 は、MCTD と MCTD 非診断例との間に差は見られなかったが、抗 U1RNP 抗体低値群(ELISA 50 index 未満)では 44.4% と有意に高率であった。これは、DRB1*0405 ローカスが抗 U1RNP 抗体の高度の産生に抑制的に作用する可能性が推測される。DQB1 では、DQB1*0402 が対照の 14.4% に対して、抗 U1RNP 抗体陽性群全体でも、有意に低値であり、本抗体陽性と DQB1*0402 陽性とが逆相関していた。このアレルも抗 U1RNP 抗体や MCTD の発症に対して抑制的に作用

することが推測された。今後は、各臨床書状との関連性も明らかにする必要がある。

今後、登録された 162 例の追跡調査を行い、抗 U1RNP 抗体単独陽性例の予後、MCTD への移行の有無と HLA との関連も追求して行く必要があると考えられた。

文 献

1. Smolen JS, and Steiner G. Mixed connective tissue disease: to be or not to be? *Arthritis Rheum*, 1998;41:768-77.
2. LeRoy EC, Maricq HR, Kahaleh MB. Undifferentiated connective tissue syndromes. *Arthritis Rheum*, 1980; 23: 341-3.
3. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 1999; 43:76-84.
4. Frandsen PB, Kriegbaum NJ, Ullman S, et al. Follow-up of 151 patients with high-titer U1RNP antibodies. *Clin Rheumatol*, 1996; 15:254-60.
5. 近藤 啓文, 岡田 純: 抗 U1RNP 抗体陽性症例の臨床経過に関するプロスペクティブ多施設共同研究. 平成 11 年度厚生省 MCTD 班研究報告書, 2000: 5-8.
6. Kuwana M, Okano Y, Kaburaki J, et al. Clinical correlations with HLA type in Japanese patients with connective tissue disease and anti-U1 small nuclear RNP antibodies. *Arthritis Rheum* 39:938-942, 1996.

表1 .MCTD とHLA-DRB1

HLA DRB1	Japanese Control	Disease		
	118	ALL 162	MCTD 95	non MCTD 67
*0101	13.6	19.8	23.5	14.1
*0401	5.1	8.6	8.2	9.4
*0403	6.8	5.6	4.1	7.8
*0404	0.0	0.6	0.0	1.6
*0405	19.5	22.8	20.4	26.6
*0406	7.6	6.2	6.1	6.3
*0407	0.0	0.0	0.0	0.0
*0410	5.9	1.9	1.0	3.1
*0701	1.7	0.6	0.0	1.6
*0802	11.0	8.6	8.2	9.4
*0803	11.0	13.0	6.1	23.4
*0901	29.7	34.6	34.7	34.4
*1001	2.5	1.2	1.0	1.6
*1101	5.1	2.5	2.0	3.1
*1201	5.9	3.7	4.1	3.1
*1202	2.5	0.6	1.0	0.0
*1301	0.9	2.5	3.1	1.6
*1302	10.2	6.2	8.2	3.1
*1401	5.1	6.2	5.1	7.8
*1403	1.7	3.1	3.1	3.1
*1405	5.9	2.5	2.0	3.1
*1406	1.7	0.6	0.0	1.6
*1407	0.0	0.6	0.0	1.6
*1501	21.2	22.8	25.5	18.8
*1502	11.9	14.2	15.3	12.5
*1602	5.1	1.2	2.0	0.0

表2 . MCTD とHLA-DQB1

HLA DQB1	Japanese Control	Disease		
	118	ALL 162	MCTD 95	non MCTD 67
*0101	0	0.6	0.0	1.6
*0201	0	0.6	0.0	1.6
*0202	1.69	0.0	0.0	0.0
*0301	17.8	16.7	14.3	20.3
*0302	17.8	14.8	14.3	15.6
*03032	32.2	35.8	37.8	32.8
*0401	19.5	23.5	21.4	26.6
*0402	14.4	4.3	3.1	6.3
*0501	16.1	19.8	23.5	14.1
*0502	8.47	3.7	4.1	3.1
*05031	6.78	3.7	2.0	6.3
*0601	22.9	27.8	22.4	35.9
*0602	20.34	19.8	21.4	17.2
*0603	0.85	2.5	3.1	1.6
*0604	9.32	4.9	7.1	1.6
*0609	0.85	1.2	1.0	1.6

* P < 0.05

表3. HLA 抗原と MCTD および検査成績との関係

HLA Alleles	Disease	Disease		Control N=118	P	Pc	Relative Risk	Odds	95% Confidence	
		No	%							
DRB1*0101	All	162	19.8	13.6	0.174	0.993	1.190	1.569	0.816	3.017
DRB1*0101	MCTD	98	23.5	13.6	0.059	0.797	1.392	1.955	0.967	3.954
DRB1*0405	RNP<50	18	44.4	19.5	0.019	0.388	2.710	3.304	1.173	9.305
DQB1*0402	All	162	4.3	14.4	0.003	0.048	0.482	0.268	0.107	0.670
DQB1*0402	MCTD	98	3.1	14.4	0.004	0.069	0.309	0.188	0.053	0.661
DQB1*0402	RNP>50	109	1.8	14.4	0.001	0.016	0.205	0.111	0.025	0.493

Pc: P corrected

MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF CASES WITH ANTI-U1RNP ANTIBODY

- Association with HLA and clinical manifestations of disease-

Okada J¹⁾, Kondo H¹⁾, Okubo M²⁾, and Okano T³⁾

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine¹⁾, Transfusion Medicine & Cell Therapy, Saitama Medical School²⁾, Clinical Immunology, Kitasato University School of Allied Health Sciences³⁾

Disease associated with anti-U1RNP antibody is the main autoantibody in MCTD. To clarify the clinical entity of MCTD, we conducted a multi-center prospective clinical study in patients with anti-U1RNP antibody. We examined the association with HLA and clinical manifestations of MCTD utilizing the patients who were enrolled in this study.

The study included consecutive patients referred to the centers for evaluation of connective tissue diseases between January 1999 and December 2003. We evaluated anti-nuclear antibody profiles using immuno precipitation method(IIP), double immuno diffusion method(DID), RIA and ELISA at time of start in this study. HLA DRB1 and HLA DQB1 alleles were determined by DNA typing. Anti-nuclear antibody negative individuals was used as normal control in Saitama University.

One hundred sixty two cases were used in this report. Patients with anti-U1RNP antibody were divided to two group as MCTD(95) and non MCTD(67). DRB1*0101 was increased in MCTD group but the difference was no significant. DRB1*0405 was increased in 44% patients with low titer of anti-U1RNP antibody (ELISA < 50 unit). DQB1*0402 was significantly low frequency in patients with anti-U1RNP antibody and MCTD group.