

200500847A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立
に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

平成18年3月

主任研究者 三 森 経 世

目 次

I. 総括研究報告

- 混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
(三森 経世)

II. 分担研究報告

1. 抗 U1RNP 抗体陽性患者血清中に見出された抗肺動脈血管内皮細胞抗体
に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7
(藤井 隆夫)
2. 混合性結合組織病(MCTD)にともなう肺高血圧症(PH)に関連する抗内皮
細胞抗体(AECA)に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
(澤井 高志)
3. MCTD における抗内皮細胞抗体の検討・・・・・・・・・・・・・・・・ 17
(吉田 俊治)
4. 混合性結合組織病患者血清における新規自己抗原 NA14 への反応性に
関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22
(高崎 芳成)
5. 新規抗核抗体産生マウスモデルの検討・・・・・・・・・・・・・・・・ 27
(川畑 仁人)
6. 肺高血圧に合併する心血管系のリモデリングの病態解明と治療法開発
に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33
(田中 廣壽)
7. NOS2 遺伝子多型による肺高血圧症発症の予測・・・・・・・・ 36
(原 まさ子)
8. 膠原病血管病変における血清 Angiopoietin-1 に関する研究・・・・ 40
(岡田 純)
9. 膠原病性肺高血圧症における Na 利尿性ペプチドファミリーの意義に
関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 43
(諏訪 昭)
10. MCTD のステロイド治療を標準化するための臨床調査研究・・・・ 47
(三森 明夫)
11. 肺高血圧症を合併した膠原病患者に対するプロスタサイクリン持続
静注療法の効果に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 55
(京谷 晋吾)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 57

IV. 平成 17 年度構成員名簿・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 65

I. 総括研究報告

混合性結合組織病の病態解明と治療法の確立に関する研究

主任研究者 三森 経世（京都大学大学院医学研究科臨床免疫学・教授）

研究要旨

混合性結合組織病（MCTD）はわが国に多い疾患であり、これまでの調査研究により特徴的な臨床所見と抗U1RNP抗体とに密接な関連があること、自然歴よりSLE, SSc, PMのいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有すること、主な死因としての肺高血圧症（PH）が重要であることが明らかにされてきた。しかし、MCTDの病態形成機序にはなお不明な点が多く、生命予後の悪いPHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法についても原発性PHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。MCTDの病態形成機序解明と治療法確立のため、1)抗U1RNP抗体および他の液性因子の病因的意義、2)MCTDに合併するPHの自然歴および病態の解明と治療、3)抗U1RNP抗体陽性患者の追跡調査、4)エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定、を重点研究課題とし歴代の研究班で未解決として残された課題の解決を目指す。

分担研究者

岡田 純（北里大学健康管理センター・助教授）
川畑仁人（東京大学アレルギーリウマチ内科・助手）
京谷晋吾（国立循環器病センター・医長）
澤井高志（岩手医科大学病理学第一講座・教授）
諏訪 昭（東海大学リウマチ内科学・助教授）
高崎芳成（順天堂大学膠原病内科・教授）
田中廣壽（東京大学医科学研究所・助教授）
原まさ子（東女医大膠原病リウマチ痛風センター・教授）
藤井隆夫（京都大学大学院臨床免疫学・講師）
三森明夫（国立国際医療センター・部長）
吉田俊治（藤田保健衛生大リウマチ感染症内科・教授）

A. 目的

混合性結合組織病（MCTD）は1972年にSharpらによって提唱された疾患概念で、抗U1RNP抗体高力価陽性と全身性エリテマトーデス（SLE）、強皮症（SSc）、筋炎（PM）様症状を合わせ持つ病態を特徴とする。米国ではMCTDの疾患概念と独立性に対して議論もあるが、わが国では

1982年以来特定疾患に指定され、診断名として広く定着するとともに、これまでの調査研究によりわが国では欧米よりも頻度の高い疾患であること、特徴的な臨床所見と抗U1RNP抗体とに密接な関連があること、自然歴よりSLE, SSc, PMのいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有すること、主な死因としての肺高血圧症（PH）が重要であることが明らかにされてきた。これまで1982年にMCTD調査研究班発足以来、数回の全国疫学調査によりMCTDには予後不良なPH合併が多く必ずしも予後の良い疾患ではないことが明らかにされた。さらに、MCTD診断の手引き（粕川班1987）、PH診断の手引き（横張班1990）、MCTD治療指針（東條班1995）、PHの治療ガイドライン（近藤班2004）が作成されたことは大きな成果としてあげられ、我国におけるMCTDの臨床診療の向上に大きく貢献してきた。

しかし、MCTDの病態形成機序には不明な点が多い。特にMCTDの血清学的マーカーである

抗U1RNP抗体がいかにして産生され、病態にどのようにかわるかについてはなお不明である。生命予後の悪いPHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法については原発性PHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。我々はかかる点を解明し、MCTDのさらなる予後改善のために昨年度より本研究班を立ち上げた。本研究は歴代の研究班で未解決として残された課題の解決を目指し、かかる問題点を重点研究課題とすることで、MCTDの病態解明を追究し、治療法の確立と生命予後改善を目指すことを目的とする。

B. 方法

1. 抗U1RNP抗体および他の液性因子の病因的意義：

抗U1RNP抗体自身や新たな抗血管内皮細胞抗体などの液性因子の病原性を追及するために培養肺血管内皮細胞を用いたin vitro研究および動物モデルを用いた研究でトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析を行う（藤井，澤井，吉田，高崎）。また抗U1RNP抗体産機序をヌードマウスにT細胞を移入する系で検討する（川端）。

2. MCTDに合併するPHの自然歴および病態の解明と治療：

MCTDに合併するPH（MCTD-PH）の自然歴を疫学調査で検討する（吉田）。MCTD-PHの病態形成機序を血管運動性に関与する液性因子、転写因子から追及する（田中，原，岡田，諏訪）。MCTD-PHにおけるステロイド療法および免疫抑制薬の効果・有用性を後ろ向きおよび前向き研究によって検討する（三森明夫）。またMCTD-PHに対する血管拡張療法の適応，有用性を前向き研究によって確立する（京谷）。

3. 抗U1RNP抗体陽性患者の追跡調査：

平成14-16年度に近藤班で行われた抗U1RNP抗体陽性膠原病患者150例の追跡調査のコホートについて、さらに追跡を行い、臨床経過、臨

床像と自己抗体およびHLAの関連を追及してMCTDの自然歴の明確化を図る（全員）。

4. エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定：

本研究で得られた成果と過去の文献のシステマティックレビューによりエビデンスレベルの高い治療法を整備し、エビデンスに基づいた治療ガイドラインを作成する（全員）。

C. 結果

1. 抗U1RNP抗体および他の液性因子の病因的意義およびその産生機序

1-1. 抗U1RNP抗体陽性患者血清中に見いだされた抗肺動脈血管内皮細胞抗体に関する研究

（藤井）： 抗U1RNP抗体陽性患者血清において、同抗体と関連し肺動脈血管内皮細胞

（HPAEC）に特異的に反応する自己抗体を検討し、HPAECおよびHeLa細胞抽出物を抗U1RNP抗体陽性膠原病患者（MCTD14, SLE31, その他19例）で免疫プロットし、HPAECに特異的と考えられる29kDa蛋白（HPA30）を見出した。抗HPA30抗体IgGはHPAECに添加すると有意に培養上清中のRANTES濃度が上昇した。抗HPA30抗体陽性血清の89%はHeLa細胞で抗B'/B抗体陽性であった。HPA30蛋白は、U1RNPのB'/B蛋白および神経細胞に発現するN蛋白と分子量がほぼ同じであり、互いの関連性が示唆される。

1-2. MCTDにおける肺高血圧症(PH)に関連する抗内皮細胞抗体(AECA)に関する研究（澤井）

： MCTD患者でのPH発症の原因は肺微小血管内皮細胞傷害であることが示唆されており、またPH合併MCTD患者血清が肺微小血管内皮細胞に対して高い反応性を示すことが明らかになっている。肺微小血管内皮細胞から調整した蛋白を2次元電気泳動で展開し、PH合併MCTD患者血清で免疫プロットし、20個のスポットとの反応を確認した。ペプチドマスフィンガープリント法で、強皮症患者で自己抗体の報告のあ

るNPM1, モノクロタリンで修飾を受けるPDIA3, 肺血管特異的に発現するSERPINB9などが候補分子として同定された。

1-3. MCTDにおける抗内細胞抗体 (AECA) の検討 (吉田) : MCTD-PHにおけるAECAをHUVECおよびHPAECを用いた間接蛍光抗体法で検討したところ, MCTD-PH患者血清はHPAEC細胞で表面の顆粒状染色を強く認めることを確認した。PH合併MCTDに特異的なAECAの存在が示唆された。

1-4. 混合性組織結合病患者血清における新規自己抗原NA14に対する反応性の検討 (高崎) : シェーグレン症候群患者血清を用いてクローニングされたcoiled-coil構造を有する新規自己抗原NA14 (Nuclear Autoantigen of 14kDa) に対するMCTD患者血清の反応性を検討したところ, SjSの27%に対し, MCTDでは14%がNA14と反応し, 他の疾患ではほとんど検出されないことからMCTDの新たな自己抗体の1つと考えられた。

1-5. 新たな抗核抗体産生モデルマウスの作成とその検討 (川畑) :

CD4+CD25-T細胞(Tconv)をヌードマウスに移入すると約3週間で高力価の抗核抗体産生が惹起された。しかし, CD4+CD25+制御性T細胞(Treg)の移入や, TconvとともにTregを同時移入した場合は早期に高力価の抗核抗体産生が惹起された。Tconvをヌードマウスに移入すると臓器特異的自身免疫疾患により死亡するマウスが出現するが, Tregの移入により高力価の抗核抗体産生を長期にわたり観察できることがわかった。またこれらのマウスでの抗U1RNP抗体の産生が確認された。

2. MCTDに合併するPHの自然歴および病態の解明と治療

2-1. 肺高血圧に合併する心血管系のリモデリングの病態解明と治療法開発に関する研究 (田中) : 血管平滑筋の分化誘導に伴って発現する遺伝子の一つとして発見されたHEXIM1はP-TEFbを抑制して転写伸張反応を負に制御す

る。ヒト冠動脈由来血管平滑筋細胞, ヒト病理組織冠動脈ならびに心筋切片においてはHEXIM1が発現していることが確認され, またHEXIM1を過剰発現させると血管平滑筋の増殖が抑制されることを見出した。ヒトにおいても血管平滑筋・心筋細胞の増殖や心肥大にHEXIM1が関与している可能性があり, HEXIM1はPHや右心肥大の病態を解明し治療法を開発する上で鍵となる分子である可能性がある。

2-2. NOS2遺伝子多型による肺高血圧症発症の予測 (原) : 血管拡張因子である一酸化窒素(NO)に着目し, その合成酵素である一酸化窒素合成酵素 (NOS)-2の遺伝子多型とPAHの発症頻度を検討した。PH合併MCTD例で, 血中ET-1は有意に高値を示したが, NOは健常人と比較し差がなかった。NOS2の転写調節領域にCCTTTの繰り返し配列が存在し, その繰り返し数がPH合併例では有意に少なかった。NOS2遺伝子のCCTTTの繰り返し配列部分と-1557から+58の部分を用いたpGL3に組み込み転写活性を検討した結果, CCTTT繰り返し数が少ないほど転写活性が低下した。したがってNOS2遺伝子の低い転写活性を示す患者の方が高頻度にPHを発症することが示唆された。

2-3. 膠原病血管病変における血清

Angiotensin-1の検討 (岡田) :

Angiotensin-1(Ang-1)はTie2受容体を介して血管平滑筋の増殖を誘導する因子であり, Ang-1がRAにおける血管の増殖や肺高血圧症での病態形成に関与することが推測されている。膠原病血管病変における血清Ang-1を測定したところ, RAでは早期より上昇がみられ, SLEではAPS合併例など血管病変を有する症例で上昇が見られ, 血管炎症例では最も陽性率が高かった。またPH例でも一部の症例ではAng-1の増加がみられた。血管病変を有する多くの膠原病で血清Ang-1の上昇がみられ, 血管病変の評価に有用な指標となる可能性が推測された。

2-4. 膠原病性肺高血圧症におけるNa利尿性ペプチドファミリーの意義に関する研究（諏訪）：心房性および脳性Na利尿性ペプチド（ANP, BNP）は、心不全において代償的に分泌・産生されるホルモンであり、原発性PHおよび膠原病性PHの診断、および病態把握上有用とされる。血漿BNP, ANP, およびNa利尿性ペプチドの細胞内セカンドメッセンジャーであるサイクリックGMPは膠原病性PHおよび心不全においても高値を示し、有用な指標であった。さらにBNP値は、既知の体液貯留をきたす病態に加えステロイド服用例で上昇すること、こうした要因を認めない例においても基準値を超える例が多くみられた。これは、血管内皮障害などの膠原病のなんらかの病態と関連してBNPが産生される可能性を示唆する知見である。

2-5. 肺高血圧症を合併した膠原病患者に対するプロスタサイクリン持続静注療法の効果に関する研究（京谷）：生命予後不良の重症肺高血圧症を合併した膠原病患者17例（SLE5, MCTD11で、関節リウマチ1）における長期プロスタサイクリン持続静注療法の有効性について検討した。プロスタサイクリンを漸増して用いたが、14例においては12ヶ月後までに状態の安定がみられ、以後の増量は行わなかった。1年後には肺動脈圧は18%低下、心拍出量は68%増加、肺血管抵抗は52%減少、混合静脈血酸素飽和度は増加した。BNPも14例で100pg/ml以下まで低下し、6分間歩行距離も向上した。顎関節痛、顔面紅潮、頭痛等の副作用を認めたが、原発性肺高血圧症に投与した際と同様の程度であった。プロスタサイクリン治療により膠原病の活動性が悪化することはなかった。プロスタサイクリン持続静注療法は膠原病に伴う肺高血圧症においても原発性肺高血圧症に対すると同様に有効であった。

2-6. MCTDの治療方針の標準化に関する研究（三森明夫）：MCTDのステロイド薬の必要性、有効性には、一部重要な点で不明確さが残

されていると思われる。病歴によるレトロスペクティブ研究によりPHのステロイド治療反応性を検討したところ、MCTDにおけるPHの8例はすべてステロイド不応例だったのに対し、MCTD以外のSLE、強皮症、SjS、重複症候群のPH計9例では5例に反応が見られた。抗U1RNP抗体陽性群、MCTD、膠原病重複症候群を厳密に区別する意義は、先験的に明らかとはいえないが、厳密な基準を満たすMCTDでは合併するPHにステロイド適応がない、ということがもし明らかになれば、ステロイドを回避して早期にエポプロステノール導入する方針が考慮される。

3. 抗U1RNP抗体陽性患者の追跡調査（全員）

1999-2004年にかけて近藤班プロジェクト共同研究として、抗U1RNP抗体に伴う臨床像と遺伝学的背景を解明するために、抗U1RNP抗体陽性患者150例を登録し、臨床所見と自己抗体および患者DNAを含むデータバンクを作成して、追跡調査を行っている。このコホートの追跡調査をさらに継続した。

4. エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定（全員）

本研究で得られた成果、および過去の文献のシステマティックレビューにより、エビデンスレベルの高い治療法を整備し、エビデンスに基づいたMCTDの治療ガイドラインを作成するために、本年度は治療に関する過去の文献をシステマティックに検索し、エビデンスレベルの分類を行なう作業を開始した。

D. 考察および結論

MCTDはわが国に多い疾患であり、わが国が中心となって研究を進める責務がある。これまでの調査研究によりわが国では欧米よりも頻度の高い疾患であること、特徴的な臨床所見と抗U1RNP抗体とに密接な関連があること、自然歴よりSLE、SSc、PMのいずれとも異なる独自の病像と自然経過を有すること、主な死因とし

てのPHが重要であることが明らかにされてきた。これらの過去の研究班の努力によって、MCTDが独立した疾患概念であることはほぼ確立したと考えてよい。しかし、MCTDの病態形成機序にはなお不明な点が多い。特にMCTDの血清学的マーカーである抗U1RNP抗体がいかにして産生され、病態にどのようにかわるかについてはなお不明である。生命予後の悪いPHについても発症のメカニズムは不明であり、その治療法については近年プロスタサイクリン製剤エンドセリン受容体拮抗薬が我国でも適応となったが、その適応や効果には原発性PHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。我々はかかる点を解明し、MCTDのさらなる予後改善のために本研究班を立ち上げた。MCTDのPHは原発性PHと異なってステロイドや免疫抑制薬に反応する可能性があり、原発性PHとは異なった独自の治療指針を確立する必要性が大きい。

本年度はMCTDの病態形成機序解明と治療法確立のため、1)抗U1RNP抗体および抗肺血管内皮細胞抗体などの液性因子の病因的意義、2)MCTDに合併するPHの病態の解明と治療法の確立、を重点研究課題とし、一定の成果が得られつつある。これらの成果は、エビデンスを重視したMCTDの診療ガイドラインの作成に生かされたものと考えられる。MCTDは当初考えられていたほど予後のよい疾患ではないため、患者の生命予後とQOL改善は急務といえる。ガイドライン策定により全国での一定レベルの診療が可能となる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Mimori T: Clinical significance of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis. Intern Med

44(11):1122-6, 2005.

2) Matsukawa H, Kanai T, Naganuma M, Kamada N, Hisamatsu T, Takaishi H, Ogata H, Mukai M, Ishii H, Mimori T, Watanabe M, Hibi T: A novel apoptosis-inducing monoclonal antibody (anti-LHK) against a cell surface antigen on colon cancer cells. J Gastroenterol 40(10):945-55, 2005.

3) Yoshifuji H, Umehara H, Maruyama H, Itoh M, Tanaka M, Kawabata D, Fujii T, Mimori T: Amelioration of experimental arthritis by a calpain-inhibitory compound: regulation of cytokine production by E-64-d in vivo and in vitro. Int Immunol 17(10):1327-36, 2005.

4) Sato S, Hirakata M, Kuwana M, Nakamura K, Suwa A, Inada S, Mimori T, Ikeda Y: Clinical characteristics of Japanese patients with anti-PL-7 (anti-threonyl-tRNA synthetase) autoantibodies. Clin Exp Rheumatol 23(5):609-15, 2005.

5) Miyaji M, Jin ZX, Yamaoka S, Amakawa R, Fukuhara S, Sato SB, Kobayashi T, Domae N, Mimori T, Bloom ET, Okazaki T, Umehara H: Role of membrane sphingomyelin and ceramide in platform formation for Fas-mediated apoptosis. J Exp Med 202(2):249-59, 2005.

6) Handa T, Nagai S, Kawabata D, Nagao T, Takemura M, Kitaichi M, Izumi T, Mimori T, Mishima M: Long-term clinical course of a patient with anti PL-12 antibody accompanied by interstitial pneumonia and severe pulmonary hypertension. Intern Med 44(4):319-25, 2005.

7) Sato S, Hirakata M, Kuwana M, Suwa A, Inada S, Mimori T, Nishikawa T, Oddis CV, Ikeda Y: Autoantibodies to a 140-kd polypeptide, CADM-140, in Japanese patients with clinically amyopathic dermatomyositis. Arthritis Rheum 52(5):1571-6, 2005.

8) Hirakata M, Suwa A, Kuwana M, Sato S, Mimori T, Hardin JA: Association between autoantibodies to the Ku protein and DPB1*.

Arthritis Rheum 52(2):668-9, 2005.

9) Sato S, Nogawa S, Hirakata M, Iizuka H, Suwa A, Mimori M, Ikeda Y: Sensorimotor polyneuropathy as an initial clinical manifestation of sarcoidosis. Mod Rheumatol 16: 144-147, 2005
10) Ichikawa Y, Saito T, Yamanaka H, Akizuk M, KondoH, Kobayashi S, Oshima H, Kawai S, Hama N, YamadaH, Mimori T, Amano K, Tanaka Y, Matsuoka Y, Yamamoto S, Matsubara T, Murata N, Asai T, Suzuki Y: Therapeutic effects of the combination of methotrexate and bucillamine in early rheumatoid arthritis: a multicenter, double-blind, randomized controlled study. Mod Rheumatol 16:323-328, 2005

2. 学会発表

1) 小林 志緒、臼井 崇、藤井 隆夫、他. 活性型 TGF- β 発現レトロウイルスと抗原特異的 T 細胞移入を用いたコラーゲン誘導関節炎特異的な治療法の試み. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
2) 吉藤 元、藤井 隆夫、小林 志緒、他. 抗アミノアシル tRNA 合成酵素(ARS)抗体と多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)の筋・肺病変の臨床経過との相関. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
3) 佐藤 毅、藤井 隆夫、藤田 義正、他. 中枢神経症状を呈した患者の脳脊髄液中における抗 U1RNP 抗体測定の意義. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
4) Sato T, Fujii T, Fujita Y, Tanaka M, Mimori T. Detection of anti-U1RNP antibodies in cerebrospinal fluid in patients with systemic lupus erythematosus. The 1st East Asia Group

of Rheumatology (EAGOR) meeting. 東京、2005 年 5 月.

5) 村上孝作、吉藤 元、藤井 隆夫、他. 抗 Ku 抗体陽性例における臨床像の検討. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
6) 小林 志緒、臼井 崇、藤井 隆夫、他. 活性型 TGF- β を発現する II 型コラーゲン特異的 CD4 陽性 T 細胞移入によるコラーゲン誘発関節炎特異的な免疫制御法の可能性. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
7) 伊藤 能永、吉藤 元、藤井 隆夫、他. 抗シグナル認識粒子(SRP)抗体陽性多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)の臨床経過の解析. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
8) Tanaka Y, Tokunaga M, Fujii T, et al. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving central nervous system. The 69th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. San Diego, 2005 年 11 月.
9) Yoshifuji H, Fujii T, Kobayashi S, et al. Anti-synthetase antibodies in clinical course prediction of interstitial lung disease complicated with idiopathic inflammatory myopathies. The 69th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. San Diego, 2005 年 11 月.

II. 分担研究報告

抗U1RNP抗体陽性患者血清中に見出された抗肺動脈血管内皮細胞抗体に関する研究

分担研究者：藤井 隆夫

京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学・講師

研究協力者：郭 生玉、童 曉鵬、佐藤 毅 京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学

研究要旨

抗U1RNP抗体陽性全身性リウマチ性疾患患者では肺高血圧症（PH）などの重篤な血管障害が高頻度である。昨年度までの本研究班においてわれわれは、PHを合併した抗U1RNP抗体陽性患者血清から分離したIgGが肺動脈血管内皮細胞（HPAEC）からのsICAM-1やケモカインRANTESの分泌を刺激することを見いだした。しかし他の抗核抗体陽性患者を含め症例数を増やして検討したところ、必ずしも抗U1RNP抗体陽性患者IgGに特異的な現象ではなかったため、抗U1RNP抗体と併存する他の自己抗体の存在を考えた。本研究では、多数の抗U1RNP抗体陽性患者血清をスクリーニングし、HPAECに特異性が高いと考えられる31kDaの蛋白を認識する自己抗体（抗HPA31抗体）を見出した。抗HPA31抗体は抗B'/B抗体と抗A抗体と有意に共存したが、抗70K抗体との相関はなかった。また抗HPA31抗体陽性血清では、HeLa細胞を抗原とした場合に32/30kDa蛋白に対する抗体が高頻度に見出された。なお抗HPA31抗体とこれらの自己抗体との交叉反応は確認できなかった。さらに抗HPA31抗体を含む精製IgGと含まない精製IgGをHPAECの培養上清中に加えて比較したところ、前者においてRANTES分泌が有意に刺激された。ケモカインであるRANTESはPHの病態に関与することが知られているため、われわれが見出した抗HPA31抗体は抗U1RNP抗体と密接に関連しかつ抗U1RNP抗体における肺動脈血管内皮傷害に関与する可能性がある。

A. 研究目的

MCTDは全身性エリテマトーデス（SLE）、強皮症（SSc）、多発性筋炎の混合所見を有し、血清中の高力価抗U1RNP抗体を特徴とする疾患である。また大多数の患者でレイノー現象がみられる。MCTDは一般に予後良好な疾患と考えられているが、肺高血圧症（PH）を合併する患者ではその予後は著しく悪化する。PHが強皮症など膠原病に伴うことはよく知られているが、日本ではMCTD患者や抗U1RNP抗体陽性患者において高頻度である。しかし、このような血管障害における抗U1RNP抗体の病因的意義は明らかではない。

われわれは抗U1RNP抗体が、抗DNA抗体と同様に病因的意義を有するか否かを明らかにするため、昨年度までの本研究班（近藤班）で、抗U1RNP抗体陽性膠原病患者血清中におけるU1RNP構成蛋白（70K、A、B'、C）を認識する

IgGサブクラスと疾患活動性およびPHとの関連を調べてきた。その結果抗U1RNP抗体の一部のサブクラスは疾患活動性あるいはPHと関連する可能性があるとして結論した。さらに抗U1RNP抗体陽性でPHを有する患者血清中のIgGを精製し、肺動脈血管内皮細胞（HPAEC）に与える影響を*in vitro*で検討した。精製した3例の抗U1RNP抗体陽性PH患者血清由来IgG（1 mg/ml）は、補体の存在下でsICAM-1やRANTESの分泌を刺激した。しかしこのHPAECに対する作用は、患者IgGとRNP抗原を含む可溶性核抗原をpreincubationしても変化することはなく、このHPAEC刺激がU1RNPを認識するIgGによるものか否かについては明らかにできなかった。

本研究では、同様の実験を他の抗核抗体陽性例において行うとともに、全身性リウマチ性疾患患者血清中に、抗U1RNP抗体と相関し、かつHPAECを特異的に認識する自己抗体が存在し

ないか調べることを目的とした。

B. 研究方法

本研究に対して充分理解・同意された上で採血され（京都大学医学部医の倫理委員会承認番号第730番）、RNA免疫沈降法により抗核抗体陽性であった22例（抗U1RNP抗体陽性 11例、抗Sm抗体陽性 4例、抗SS-A抗体陽性 10例、抗DNA抗体陽性 10例。なお各抗核抗体の重複あり）から血清を採取し、IgGを精製した。また同様に、抗U1RNP抗体陽性と判断された当院通院中の抗U1RNP抗体陽性膠原病患者64血清（SLE 31、MCTD 14、SSc 3、RA 2、シェーグレン症候群 2、PM/DM 1、分類不能膠原病 1、DLE 1、その他 9）を免疫ブロット法を用いて検討した。なお健常人血清3例の血清あるいは精製IgGをコントロールとした。

IgGの精製は、プロテインGカラム（ImmunoPure®G IgG purification Kit, Pierce社）を用いて精製し、その後PBSにより透析を行った。また精製IgGの濃度を測定した上で濃縮を行い、抗核抗体陰性の健常人IgGを含め、10 mg/ml IgG 溶液を作成した。

培養細胞はクラボウ社のヒト肺動脈血管内皮細胞（HPAEC）を用いた。24穴のカルチャープレートを用い、HPAECがサブコンフルエントとなった状態で培養上清に患者IgGを加え（終濃度として1 mg/dl）、さらに補体を添加した。その状態で48時間培養を継続し、その培養上清中のRANTESをELISA（R&D社）により測定した。なお培養上清の希釈などはそれぞれのキットのプロトコールに従った。

またHPAECを認識する自己抗体の検索は免疫ブロット法で行った。HPAECとHeLa細胞をLysisバッファーで破碎して抗原とした。SDSサンプルバッファーを加えて電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写した後患者血清と反応させ、2次抗体としてアルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgG抗体を用いることで、両抗原における反応性の違いを確認した。またU1RNPの構成蛋白に対する抗体反応性と抗HPAEC自己抗体の反応性とを比較した。

C. 研究結果

1. 抗核抗体陽性患者IgGがHPAECに及ぼす影響

抗U1RNP抗体、抗Sm抗体、抗SS-A抗体、抗DNA抗体を含む患者血清由来IgGがHPAECに及ぼす影響を表1にまとめた。他の抗核抗体IgGに比し、抗U1RNP抗体IgGは、HPAECからのRANTES刺激を有意に刺激することはなかった。

表1. 抗核抗体陽性患者IgGによるHPAECからのRANTES分泌刺激

	抗核抗体	RANTES濃度 (pg/ml)
患者IgG	抗U1RNP抗体	28.0±21.7
	抗Sm抗体	36.5±34.7
	抗SS-A抗体	17.0±9.8
	抗DNA抗体	31.4±28.2
健常IgG		16.5±11.0
		有意差なし

2. HPAECを特異的に認識する自己抗体の同定
64例の患者血清を破碎HPAECとHeLa細胞蛋白と反応させ、免疫ブロット法で検討した（図1）。37例（58%）でHPAECに特徴的な31kDa蛋白に対する自己抗体（抗HPA31抗体）が認められた。HeLa細胞蛋白では同じ血清を用いても同様のバンドを認めることは少なかった（6例、9.4%）が、32/30kDa蛋白に対する抗体が抗HPA31抗体陽性37例中33例（89%）に認められた。またHPAEC蛋白に対して認められた抗HPA31抗体は抗A抗体あるいは抗B'/B抗体と強く関連したが、抗70K抗体とは関連しなかった（表2）。

表2. 抗HPA31抗体と抗U1RNP抗体との相関

	抗HPA31抗体		P value
	+	-	
	37(%)	27(%)	
抗70K抗体	14(38)	9(33)	N.S.
抗A抗体	25(68)	9(33)	<0.005
抗B'/B抗体	27(73)	6(22)	<0.0001

4. 抗HPA31抗体がHPAECに及ぼす影響

抗HPA31抗体陽性患者6例と、抗HPA31抗体陰性患者3例からIgGを精製し、HPAECの培養上清中に加え、48時間培養後の上清中のRANTES濃度を測定した。これら9例はいずれも抗U1RNP抗体陽性で、そのELISAで測定した抗体価や併存する他の抗核抗体には有意差はなかった。しかし上清中のRANTES濃度は抗HPA31抗体陽性IgGを加えた場合、同抗体陰性IgGを加えた場合に比し、有意に高濃度であった(図2)。

D. 考察

今回われわれは、抗U1RNP抗体陽性患者血清中にHPAECを特異的に認識しHPAECからのRANTES分泌を刺激する自己抗体、抗HPA31抗体を見いだした。抗U1RNP抗体がHPAECを刺激し、ICAM-1などの内皮細胞マーカー発現を刺激することは報告されている。しかし、抗U1RNP抗体陽性患者すべてにおいて肺高血圧が認められるわけではなく、また無症状の場合でも抗U1RNP抗体が検出されることもある。今回行ったそれぞれの抗核抗体を含む精製IgGを用いた実験結果からも、他の抗核抗体に比し抗U1RNP抗体のみが特異的にHPAECを刺激しているわけでないことが確認された。ただし、単球の活性化能があるとされる抗リボゾーム抗体陽性患者IgGを検討することができなかったため、すべての抗核抗体がHPAECに対して病因的意義を持たないとは結論できない。

次にわれわれは、抗U1RNP抗体と相関あるいは併存する自己抗体の関与を考えた。今回示した抗HPA31抗体は、抗A抗体、抗B'/B抗体と強く相関し、抗HPA31抗体が抗U1RNP抗体と関連する可能性を示唆する。しかしelution blotによる検討では、これらの自己抗体にcross reactivityはなく(データは示していない)、詳細な機序は不明である。今後、抗U1RNP抗体陰性例における陽性頻度、HPA31自己抗原のアミノ酸レベルでの解析が必要である。

抗HPA31抗体により分泌が亢進したRANTESは、血小板第4因子(PF4)スーパーファミリーに属し、メモリーT細胞(CD45RO)

に対するchemotactic activityを有するケモカインである。アレルギー性あるいは自己免疫性の炎症局所を説明するケモカインとして重要であり、SLEにおいてもその活動性やループス腎炎の病態との関与が報告されている。一方で、原発性肺高血圧症(PPH)患者の肺動脈血管内皮細胞においてRANTESが高発現し、肺高血圧症の病態に関与すると考えられている。その機序としてendothelin-converting enzyme-1やET-1の誘導が推定されている。今回の成績から、抗HPA31抗体のみがPHを誘導している可能性はきわめて低いと考えられる。しかし、本抗体はHPAECの細胞表面に結合することが確認されており(データは示していない)、その抗体価やサブクラス、さらには抗原エпитープによって、より病因的な抗HPA31抗体を抽出できる可能性がある。また抗HPA31抗体によるICAM-1やIL-6など他の内皮細胞活性化マーカーやサイトカインの分泌刺激についても検討する必要がある。もしRANTESに特異的な現象であれば、その発現調節に関与する抗原がターゲットとなっている可能性もある。

われわれは抗HPA31抗体が認識する自己抗原を二次元電気泳動法により検討しているが、今後cDNAクローニングなども含め検討を続ける予定である。

E. 結論

抗U1RNP抗体陽性患者血清中に肺動脈血管内皮細胞(HPAEC)を特異的に認識すると考えられる自己抗体を見いだした。本抗体はHPAECからのRANTES分泌を刺激したことから、抗U1RNP抗体陽性患者における肺血管傷害に関与している可能性がある。

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshifuji H, Umehara H, Fujii T, et al.

Amelioration of experimental arthritis by a calpain-inhibitory compound: regulation of cytokine production by E-64-d in vivo and in vitro. *Int Immunol* 2005; 17: 1327-1336.

2. 藤井隆夫. 免疫疾患における免疫抑制薬の使い方. 膠原病・リウマチ性疾患. 最新医学 2005; 60: 404-410.
3. 藤井隆夫, 三森経世. 関節リウマチとその類縁疾患・治療. RAの治療の基本. 抗リウマチ薬の使い方とその副作用. *Medical Practice* 2005; 22: 460-464.
4. 藤井隆夫. 膠原病の病理診断マニュアル(臨時増刊号). 膠原病の臨床所見とその読み方. b.自己抗体の臨床的意義. 病理と臨床 2005; 23: 32-37.
5. 藤井隆夫, 三森経世. 関節リウマチの動物モデルでの新しい治療 自己反応性T細胞ワクチネーション. 分子リウマチ 2005; 2: 218-222.
6. 佐藤 毅, 橋本美季子, 藤井 隆夫, 有馬 俊裕, 吉藤 元, 川端 大介, 田中 真生, 臼井 崇, 梅原 久範, 三森 経世. レフルノミド投与中止後に血球減少をきたした関節リウマチの2例. 臨床リウマチ 2005; 17: 221-225, 2005.
7. 藤井隆夫. 発熱(原因不明熱). 三森経世編. リウマチ・膠原病診療チェックリスト. pp.2-5, 2005.文光堂、東京.
8. 藤井隆夫. 成人スティル病. 矢崎義雄, 菅野健太郎監修. 疾患別最新処方. pp.530-531, 2005. メディカルビュー社、東京.
9. 藤井隆夫. 再発性多発軟骨炎. 矢崎義雄, 菅野健太郎監修. 疾患別最新処方. pp.532-533, 2005.メディカルビュー社、東京.
10. 藤井隆夫. 成人スチル病. 山口 徹, 北原 光夫, 福井 次矢 編. 今日の治療指針2006年版. pp.602-603, 2006. 医学書院、東京.
1. 小林 志緒, 臼井 崇, 藤井 隆夫, 他. 活性型 TGF- β 発現レトロウイルスと抗原特異的 T細胞移入を用いたコラーゲン誘導関節炎特異的な治療法の試み. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
2. 吉藤 元, 藤井 隆夫, 小林 志緒, 他. 抗アミノアシル tRNA 合成酵素(ARS)抗体と多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)の筋・肺病変の臨床経過との相関. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
3. 諏訪 昭, 佐藤 慎二, 藤井 隆夫, 他. MRL/MP-FAS^{pr} マウスにおけるヌクレオソームに対する自己免疫. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
4. 川端 大介, 藤井 隆夫, 井村 嘉孝, 他. 慢性水腎症を呈したループス膀胱炎に対してシクロホスファミドパルス療法が奏効したSLEの一例. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
5. 佐藤 毅, 藤井 隆夫, 藤田 義正, 他. 中枢神経症状を呈した患者の脳脊髄液中における抗 U1RNP 抗体測定の意義. 第 49 回日本リウマチ学会総会、横浜、2005 年 4 月.
6. Sato T, Fujii T, Fujita Y, et al. Detection of anti-U1RNP antibodies in cerebrospinal fluid in patients with systemic lupus erythematosus. The 1st East Asia Group of Rheumatology (EAGOR) meeting. 東京、2005 年 5 月.
7. 藤井 隆夫. 膠原病における抗核抗体の産生機序と病原性. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
8. 村上孝作, 吉藤 元, 藤井 隆夫, 他. 抗 Ku 抗体陽性例における臨床像の検討. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
9. 小林 志緒, 臼井 崇, 藤井 隆夫, 他. 活性型 TGF- β を発現する II 型コラーゲン特異的 CD4 陽性 T 細胞移入によるコラーゲン誘発関節炎特異的な免疫制御法の可能性. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
10. 中嶋 蘭, 川端 大介, 藤井 隆夫, 他. びま

2.学会発表

ん性肺胞出血に対して DFPP(二重膜濾過血漿交換療法)が著効した SLE の一例. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.

11. 伊藤 能永、吉藤 元、藤井 隆夫、他. 抗シグナル認識粒子(SRP)抗体陽性多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)の臨床経過の解析. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
12. 橋本 美季子、川端 大介、藤井 隆夫、他. ステロイド精神病に対して通電療法(ECT:Electroconvulsive therapy)が著効した多発性筋炎の一例. 第 33 回日本臨床免疫学会総会. 京都、2005 年 10 月.
13. Tanaka Y, Tokunaga M, Fujii T, et al.

Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving central nervous system. The 69th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. San Diego, 2005 年 11 月.

14. Yoshifuji H, Fujii T, Kobayashi S, et al. Anti-synthetase antibodies in clinical course prediction of interstitial lung disease complicated with idiopathic inflammatory myopathies. The 69th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. San Diego, 2005 年 11 月.

I. 知的財産権の出願・登録状況
なし

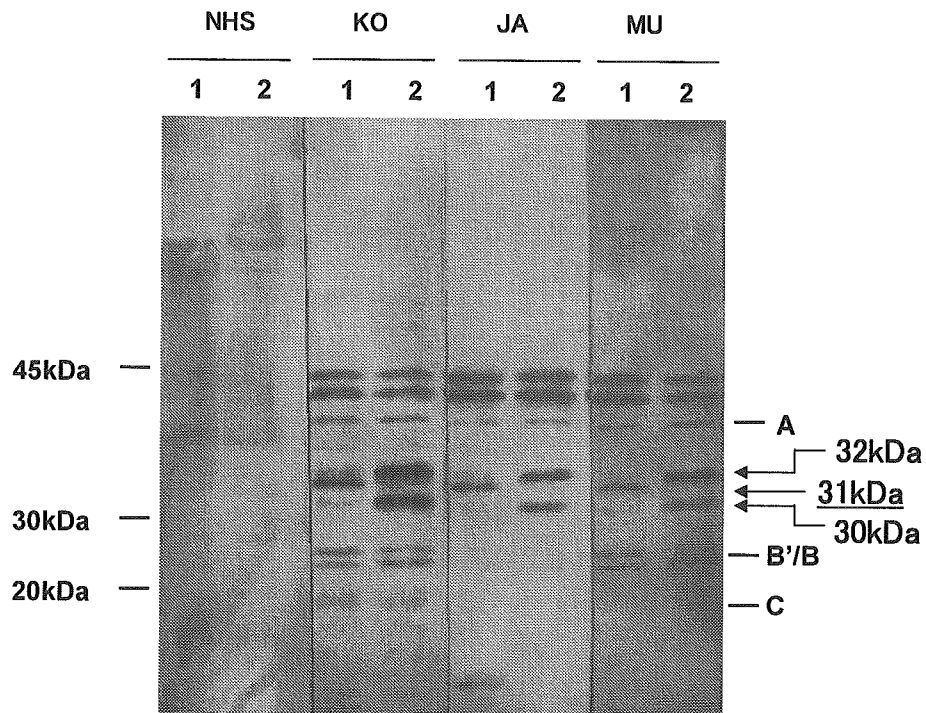


図1. HPAECとHeLa細胞蛋白を用いた免疫ブロット法。

HPAEC蛋白（レーン1）を抗原とした場合に31kDa蛋白に対する自己抗体が認められた。同抗体が陽性の症例では、Hela細胞蛋白（レーン2）に対し、32/30kDaに対する自己抗体が認められた。

NHS, normal human serum; KO, JA, MU, 抗HPA31抗体陽性患者血清

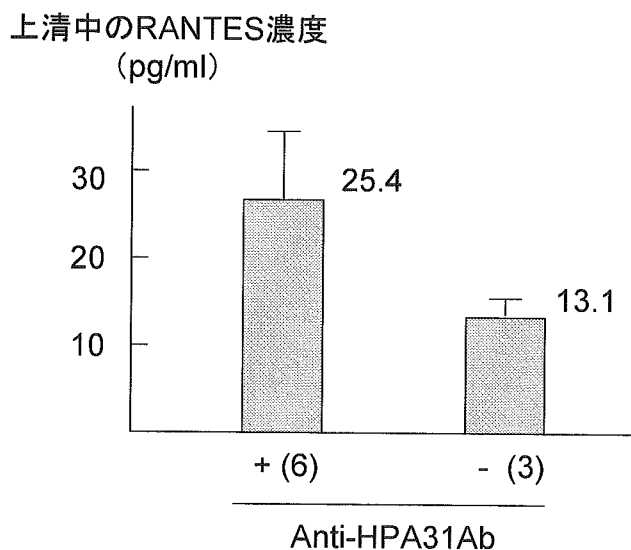


図2. 抗HPA31抗体陽性患者から精製したIgGによるHPAEC刺激。

9例とも抗U1RNP抗体は陽性であるが、抗HPA31抗体陽性患者IgGでは陰性患者に比しHPAECからのRANTES分泌が刺激されていた ($P < 0.05$)。

混合性結合組織病(MCTD)にともなう肺高血圧症(PH)に関連する抗内皮細胞抗体(AECA)に関する研究

分担研究者 澤井高志 岩手医科大学医学部 病理学第一講座 教授
研究協力者 鎌滝章央 岩手医科大学医学部 病理学第一講座 助手
佐々木信人 岩手医科大学医学部 内科学第三講座 助手

研究要旨

混合性結合組織病 (MCTD) に合併する肺高血圧症 (PH) はMCTD患者の死因の第一位を占めるが、その発症機序はいまだ明らかになっていない。本研究はMCTDにおけるPHの発症機序の解明を目的とした。PH発症に至る初期変化として肺微小血管内皮細胞傷害が示されているため、肺微小血管内皮細胞を特異的に傷害する血清因子として抗内皮細胞抗体 (anti-endothelial cell antibody, AECA) に焦点をあて、AECAの抗原の探索を行った。培養肺微小血管内皮細胞より調製した蛋白質を二次元電気泳動で展開し、PHを発症したMCTD患者血清を用いたウエスタンブロットによりスポットを選択し、ペプチドマスフィンガープリンティング法によりスポットの蛋白質を解析した結果、現在までに約10個の候補蛋白質を得ることができた。

A.研究目的

混合性結合組織病 (MCTD)では他の膠原病に比べ高率に発症する肺高血圧症 (PH)が死因の第一位を占めているが、その成因は不明である。本研究は、MCTDにおけるPHの発症機序の解明を目的とした。本研究室での病理組織学的検討から、MCTDではPHを示さない患者でも肺の小血管を中心に血管内皮細胞傷害に起因する病変が発生しており、徐々に進行してPHの発症にいたることが示唆されている¹⁾²⁾。また、PHを発症しているMCTD患者血清が肺微小血管内皮細胞に対して高い反応性を示すことも明らかになっている³⁾。そこで、今回はMCTD患者血清中の抗内皮細胞抗体 (anti-endothelial cell antibody, AECA)による肺微小血管の傷害や機能変化がPH発症の原因であると考え、PHを発症しているMCTD患者血清に特異的なAECAの抗原の探索を行った。

B.研究方法

肺微小血管内皮細胞(HMVEC-L)から調製した蛋白質を二次元電気泳動で展開し、PVDF膜に転写後、健常者血清やPHを発症している

MCTD患者血清を用いてウエスタンブロットを行った (2Dウエスタン)。PHを発症しているMCTD患者の血清に強く反応したスポットをゲルから切り出し、部位特異的な蛋白質分解酵素で処理した後、ペプチドマスフィンガープリンティング法を用いて、各々の蛋白質を同定した。(倫理面への配慮)

採血にあたっては、提供者に使用目的、データ管理について説明し、インフォームドコンセントが得られた場合にのみサンプルの提供をうけた。これら提供者のデータの管理については研究中、研究終了後を問わずに厳重に行い、解析時や発表時には検体番号で扱い、個人名が第三者に知られないように配慮した。

C.研究結果

2Dウエスタンの結果、PHを発症したMCTD患者の血清に強く反応するスポットを約20個選択できた。そのうちの半数をペプチドマスフィンガープリンティング法によって同定できた。同定できたAECAの抗原の候補蛋白質は、vimentin, serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 9 (SERPINB9)、aldehyde

dehydrogenase family 1 member A1 (ALHD1A1)、heat shock 70Kda protein 9B (HSPA9B)、protein disulfide isomerase family A, member 3 (PDIA3)、nucleophosmin (NPM1)、annexin A5、annexin A1、annexin A2などであった。

D. 考察

ウエスタンブロットによる検出では、抗体の反応性が高くなり非特異的なものを検出してしまう場合や逆に反応性が低くなる場合があり、今回同定できた蛋白質やスポットに対応する蛋白質の全てが疾患と関連しているとは言えない。しかし、vimentin、HSP、annexinといった様々な疾患で自己抗体の報告がなされている蛋白質⁴⁾⁵⁾が同定できた蛋白質に含まれたことを考えると、2Dウエスタン自己抗体の抗原を探索するうえで有効な手段と言え、発症機序に関連するAECAの反応性が2Dウエスタンで検出できる程度の強さかという問題が残るものの、この方法で同定できる蛋白質の中にAECAの反応する抗原が含まれる可能性は高い。今回同定できた蛋白質の中にも、MCTDにおける自己抗体の報告は未だないが強皮症において抗体陽性の患者の方が陰性の患者に比べPHを発症している割合が高いと報告されているNPM1⁶⁾や、自己抗体の報告はないがPHのモデルの作製に使用されるモノクローリンの代謝物によって修飾を受ける蛋白質の1つとしてあげられておりPH発症との関連が示唆されているPDIA3⁷⁾が含まれていて興味深い。

今後は、実際に各々の蛋白質に対する健常者やMCTD患者、PHを発症しているMCTD患者の血清の反応性に違いがみられるかを確認するために、同定された蛋白質の組換え蛋白質を作製し、ELISAにより各々の血清との反応性を調べ、陽性率の検討を行う。陽性率に違いがみられた場合にも、その蛋白質に対する抗体が病態を反映しているだけなのか、PHの発症機序に関連しているのかという重要な問題が残る。そのため、AECAによる肺微小血管内皮細胞の傷害や機能変化がPH発症の原因であると考え、同定した蛋白質に対する抗体による内皮細胞の傷

害や活性化などを解析することにより、PHの発症機序に関連しているかを検討する。

E. 結論

本研究によりAECAの抗原の候補蛋白質を得ることができた。これらの蛋白質に対する抗体について詳細に解析し、PH発症機序の一端を解明することにより、新たな診断法や治療法の可能性が開けると考える。

参考文献

- 1) Sawai T, Murakami K, Kasukawa R and Kyogoku M. Histopathological study of mixed connective tissue disease from 32 autopsy cases in Japan. *Jpn J Rheumatology* 7: 279-292, 1997
- 2) 澤井高志、三上芳喜、吉村浩一. 混合性結合組織病における肺高血圧症の病理組織学的特徴. *リウマチ科* 8: 66-74, 1992
- 3) 佐々木信人、黒瀬顕、井上洋西、澤井高志. 混合性結合組織病に合併する肺高血圧症に対する抗内皮細胞抗体の関与について. *リウマチ* 42 (6): 885-894, 2002
- 4) Thebault S, Gilbert D, Hubert M, Drouot L, Machour N, Lange C, Charlionet R, Tron F. Orderly pattern of development of the auto-antibody response in (New Zealand White x BXSB) F1 lupus mice: characterization of target antigens and antigen spreading by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *J Immunol.* 2002 Oct 1;169(7):4046-53.
- 5) Tripathy NK, Sinha N, Nityanand S. Anti-annexin V antibodies in Takayasu's arteritis: prevalence and relationship with disease activity. *Clin Exp Immunol.* 2003 Nov;134(2):360-4.
- 6) Ulanet DB, Wigley FM, Gelber AC, Rosen A. Autoantibodies against B23, a nucleolar phospho-protein, occur in scleroderma and are associated with pulmonary hypertension. *Arthritis Rheum.* 2003 Feb 15;49(1):85-92.
- 7) Lame MW, Jones AD, Wilson DW, Segall HJ. Monocrotaline pyrrole targets proteins with and without cysteine residues in the cytosol and

membranes of human pulmonary artery endothelial cells. *Proteomics*. 2005 Nov;5(17):4398-413.

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Piao H-M, Yamauchi K, Pan L-H, Nakadate T, Ito H, Mouri T, Kobayashi H, Sawai T, Nakahishi T, Takigawa M, Inoue H. Increased levels of CTGF mRNA expression in a murine model of allergic airway inflammation. *Allergol Int*. 54 (1): 107-115, 2005
- 2) Kanno H, Onodera H, Endo M, Maeda F, Chida S, Akasaka T, Sawai T. Vascular lesion in a patient of chronic active Epstein-Barr virus infection with hypersensitivity to mosquito bites: vasculitis induced by mosquito bite with the infiltration of nonneoplastic Epstein-Barr virus-positive cells and subsequent development of natural killer/T-cell lymphoma with angiodestruction. *Hum Pathol*. 36: 212-218, 2005
- 3) Kanno H, Ouchi N, Sato M, Wada T, Sawai T. Hypereosinophilia with systemic thrombophlebitis. *Hum Pathol*. 36(5): 585-9, 2005
- 4) Kimura N, Ogasawara T, Asonuma S, Hama H, Sawai T, Toyota T. Granulocyte-colony stimulating factor-and interleukin 6-producing diffuse diciduid peritoneal mesothelioma. *Mod Pathol*. 18: 446-450, 2005
- 5) Itoh Y, Uzuki M, Fujii K, Sawai T. Connective tissue growth factor (CTGF) is expressed in early inflammatory stage of synovium of patients with rheumatoid arthritis (RA), and proliferates fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheum*. 52: S48, 2005
- 6) Uzuki M, Sawai T, Ryan LM, Rosenthal A, Masuda I. Characterization of ANK positive cells in joint tissue from patients with calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease (CPPD). *Arthritis Rheum*. 52: S102, 2005

7) Yoshimura F, Kanno H, Uzuki M, Tajima K, Shimamura T, Sawai T. Downregulation of inhibitor of apoptosis proteins in apoptotic human chondrocytes treated with tumor necrosis factor- α and actinomycin D. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 Dec 16 [Epub ahead of print]

8) 宇月美和、徳永総二、澤井高志. II. 各論一臓器病変と鑑別診断一 4. 関節・骨. 病理と臨床. 23: 105-115

9) 菅野祐幸、澤井高志. III. 症例の実際-病理診断クレー- 症例1: 血管炎を伴った関節リウマチ. 病理と臨床. 23: 214-217

10) 黒瀬顕、浅井大志、澤井高志. III. 症例の実際-病理診断クレー-症例15: 肺高血圧症を伴った混合性結合組織病 (MCTD). 病理と臨床. 23: 271-274, 2005

11) 菅野祐幸、柴田祐二、高橋幸洋、澤井高志、細川敬輔、吉田浩子、小林仁、木澤哲也、谷藤幸夫、山内広平、井上洋西.

Myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody 関連顕微鏡的多発血管炎の一症例. *Clin Rheumatol*. 17: 42-47, 2005

12) 宇月美和、大内修二、貝山潤、澤井高志. 関節リウマチにおけるヒアルロン酸の動態-高分子ヒアルロン酸による治療の有効性を示す基礎的研究-. *Clin Rheumatol*. 17: 126-134, 2005

13) 高橋幸洋、菅野祐幸、嶋村正、澤井高志. 関節リウマチ滑膜組織におけるEpstein-Barr virus感染. *岩手医誌* 57 (4): 349-356, 2005

14) 宇月美和、高橋和広、笹野公伸、澤井高志. 末梢CRFとurocortinの役割-免疫系. *内分泌・糖尿病科* 21 (5): 482-489, 2005

15) 伊藤吉賢、徳永勢二、澤井高志. リウマチ性疾患の病理、病態. *MB Orthop*. 18 (10): 23-31, 2005

2.学会発表

- 1) 第94回日本病理学会学術集会. 菅野祐幸、小野寺英恵、遠藤幹也、前田文彦、千田勝一、赤坂俊英、澤井高志. 慢性活動性EBV感染症における血管病変: 虫刺部位での血管炎の発症と血管破壊性
- 2) 第49回日本リウマチ学会総会・学術集会. 菅

野祐幸、清水則夫、駒井悦子、澤井高志.
Epstein-Barr virus 陽性 NK/T細胞の血管内皮細胞への接着能の検討
3) 第10回血管病理研究会. 澤井高志、菅野祐幸、鎌滝章央、和田龍一、八木橋操六、佐藤工. 肺にフィブリノイド血管炎を伴って死亡した肺高血圧症の一例-原発性肺高血圧症 (PPH) と膠原病肺高血圧症との鑑別-

Ⅱ.知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。