

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18年度 総括・分担研究報告書

平成 19 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 抗体陽性膠原病患者の肺動脈性肺高血圧症に対する副腎皮質ステロイド療法 の検討 (多施設共同研究)	6
(三森 経世, 藤井 隆夫)	
2. 抗 U1RNP 抗体およびその免疫複合体の病原性に関する研究	11
(藤井 隆夫)	
3. 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	18
(澤井 高志)	
4. MCTD の PH に関与する自己抗体の検討	22
(吉田 俊治)	
5. 抗 NA14(nuclear autoantigen of 14 kDa)抗体の臨床的意義の検討	24
(高崎 芳成)	
6. 新規抗核抗体産生マウスモデルの検討	28
(川畑 仁人)	
7. 混合性結合組織病(MCTD)に合併した肺高血圧症(PAH)の経過に関する研究	33
(吉田 俊治)	
8. MCTD のステロイド治療方針を標準化する研究 (第 2 報; 統計解析)	38
(三森 明夫)	
9. 膠原病肺高血圧の分子機構解明と新規治療法開発に関する研究	47
(田中 廣壽)	
10. MCTD の肺動脈性肺高血圧症の発症予測因子、NOS2 遺伝子多型の前向き研究 (第 1 報)	51
(原 まさ子)	
11. 膠原病の PH における血清 Angiopoietin-1 の検討	55
(岡田 純)	
12. 膠原病性肺高血圧症における脳性 Na 利尿ペプチド前駆体 N 末端断片 (NT-proBNP) の診断的意義に関する研究	59
(諏訪 昭)	
13. 肺高血圧症を合併した膠原病患者に対するエンドセリン受容体拮抗剤ボセンタン の効果に関する研究	68
(京谷 晋吾)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	70
IV. 平成 18 年度構成員名簿	80

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抗体がいかんして産生され、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抗体陽性膠原病患者の肺動脈性肺高血圧症に対する副腎皮質ステロイド療法の検討（多施設共同研究）

班員が所属する多施設共同の前向き研究により抗U1RNP抗体陽性PH患者に対するステロイドの有用性を調べることにより、MCTDを中心とした抗U1RNP抗体陽性膠原病に合併したPH治療法に関するエビデンスをより明確にすることを目的として、ワーキンググループを結成し、その試験プロトコルを作成した。

2. 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った（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した（川端）。

3. 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した（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、転写因子から追及した（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した（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検討した（京谷）。

4. 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った（全員）。

5. 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抗体陽性膠原病患者の肺動脈性肺高血圧症に対する副腎皮質ステロイド療法の検討（多施設共同研究）

本邦において膠原病に合併するPHは抗U1RNP抗体陽性患者に多い。MCTDにおけるPH治療のガイドラインでは、抗凝固療法と酸素療法を行った上で膠原病の活動性評価を行い、活動性があつた場合、あるいは活動性がなくてもPH発症早期にはステロイドや免疫抑制薬を考慮するとされている。しかしステロイドのPHに対する有効性のエビデンスはまだ不十分である。そこで、班員が所属する多施設共同の前向き研究により抗U1RNP抗体陽性PH患者に対するステロイドの有用性のエビデンスをより明確にするために、本年度は本研究に関するワーキンググループを結成し、その試験プロトコルを作成した。現在、共同研究各施設において倫理委員会申請中であり、承認された施設から随時試験を開始する予定である。最終的な目的は膠原病に伴うPH治療に関するエビデンスを構築することであり、本研究で上記が改善された症例が多く確認されれば、PHに対して抗炎症療法・免疫抑制療法の有効性が示唆されるため、次のステップとしてステロイドと免疫抑制薬との比較を行いたい。

2. 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

2-1. 抗U1RNP抗体およびその免疫複合体の病原性に関する研究（藤井）： MCTD患者における抗U1RNP抗体の病原性を明らかとすることを最終的な目的として、MRL/lprマウス脾細胞から抗U1RNP抗体を産生するB細胞ハイブリ

ドーマを分離した。ハイブリドーマは少なくとも3種類分離され、免疫沈降法およびELISA法で反応性が異なっていた。今後これらのB細胞ハイブリドーマから分泌されるIgGのは*in vitro*および*in vivo*において病原性を調べるのに有用と考えられる。

2-2. 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おり、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の対応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発症MCTD患者血清を用いたウェ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、約10個の候補蛋白質を得ることができた。抗原候補蛋白質の一つ、nucleophosminに対して、PH合併MCTD患者の血清が強く反応することが確認された。

2-3. MCTDのPHに関与する自己抗体の検討 (吉田)

： MCTDにPHが合併し2度のステロイド治療を行い改善した患者血清を、経時的にウェスタンブロット法で分析したところ、ステロイド治療によるPH改善に伴い、減弱・消失した自己抗体 (30kDa) と新たに出現した自己抗体 (300kDa) が認められた。これらの抗体は、PHの病態に強く関連している可能性が考えられる。また、MCTDのPHに特異的な自己抗体の検出・解析において臨床症状の程度やステロイドなどの治療状況との関連は重要であると考えられた。

2-4. 抗NA14(nuclear autoantigen of 14 kDa)抗体の臨床的意義の検討 (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25.5%に対し、MCTDでは15.0%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。しかし、MCTDにおける抗NA14抗体の有無と臨床

・検査所見との間に有意差は認めなかった。

2-5. 新規抗核抗体産生マウスモデルの検討 (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る。しかし、CD4+CD25+制御性T細胞(Treg)の移入や、TconvとともにTregの同時移入により早期に高力価の抗核抗体産生が惹起され、これらの系では抗U1RNP-A抗体、抗U1RNP-70K抗体および抗U1RNP-C抗体が認められた。全身性自己免疫の自己抗体産生機序は臓器特異的自己免疫と異なることが確認され、MCTDにおける抗RNP抗体産生機序の研究に適した動物モデルと考えられる。

3. MCTDに合併するPHの自然歴および病態の解明と治療

3-1. MCTDに合併したPHの経過に関する研究

(吉田)： ①MCTDに合併したPHの発症様式、②治療によるPHの経過の違い、③PA圧の程度によるPAHの経過の違いを明らかにするため、分担研究施設を平成17年12月から平成18年3月受診したMCTD患者全例を対象とし、臨床所見、治療内容、転帰の調査を行った。118例のMCTD患者調査票が得られ30例 (25.4%) にPHの合併を認めた。MCTDの発症早期にPHが完成されている症例も存在し、比較的短時間でPHが進行する可能性が考えられた。PH診断時のPA圧にかかわらず数年間の観察期間ではPA圧はほとんどの症例で不変あるいは改善を示した。また、治療にもかかわらずPA圧低下が十分でない患者が多数存在していた。今後の多数例の前向き調査の必要性が示唆された。

3-2. MCTDのステロイド治療方針を標準化する研究 (三森明夫)

： MCTDの適正ステロイド治療方針を明らかにするため、多施設症例の全経過についてレトロスペクティブにデータベースを作成して統計解析した。その結果、PHおよび慢性病態を除くMCTDの主病態 (筋炎、間質性肺炎、SLE病態、髄膜炎) の「発生予防」について、1) MCTD診断時のステロイド投与はその後の病態発生を抑制し抑制効果は低用量でも得られる、2) 維持ステロイドの必要性は10年以後には乏しくまた病初期の再発反復例に必要性

がより高いとはいえない、ことが示唆された。これに対して、PHに対するステロイド治療効果については不明例が多く、より多くの病歴収集および治療の前向き調査の必要性が再確認された。

3-3. 膠原病肺高血圧の分子機構解明と新規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。正常人血管平滑筋や心筋でHEXIM1が発現していることから、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る。HEXIM1の発現は転写レベルで制御されており、プロモーター解析の結果、転写開始点から上流に2カ所、発現制御を正に制御する領域が存在することが示唆された。かかる領域に結合する転写因子を同定できれば、HEXIM1遺伝子発現を人為的に制御する仕組みを開発して膠原病肺高血圧の新規治療法開発に応用できること画期待される。

3-4. NOS2遺伝子多型によるMCTD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の発症頻度を前向きに検討した。11例のMCTDを登録し、うち3例にPAHが認められた。MCTD患者では健常人に比し、ET-1およびNOの有意な増加が認められ、さらにPAHの合併が認められる3例では、NOS2遺伝子の転写調節領域に存在するCCTTT繰り返し配列の数が少ない傾向が認められた。CCTTT繰り返し数が少ないほど転写活性が低いことから、NOS2遺伝子多型がMCTDのPAH発症と関連し、発症予測因子となりうることを示唆された。

3-5. 膠原病のPH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。抗U1RNP抗体陽性例では血清Ang-1値はPH群では非PH群に比較し有意に低値を示した。この傾向はすべての膠原病PHに共通するも

のではなく、SScおよびSLEではPH例で非PH例より有意に低値であったのに対し、APSではPH例が非PH例に比べて高値を示した。Ang-1はPHの原因により異なる動態を示し、血清Ang-1の解析は膠原病のPHの病態を理解する上で重要と考えられる。

3-6. 膠原病性肺高血圧症における脳性Na利尿ペプチド前駆体N末端断片 (NT-proBNP) の診断的意義に関する研究（諏訪）： 心筋細胞内でBNP前駆体の解離によりBNPとともに血中へ分泌されるBNP前駆体N末端断片 (NT-proBNP) は、左心機能障害や心不全、肺高血圧症 (PH) の診断、心不全や心血管イベント、PHの予後因子としての有用性が示されている。NT-proBNPのROC曲線解析におけるAUCは0.77、NT-proBNPのPH診断特性は感度83%、特異度72%であり、先行研究の陽性頻度から求めた事後確率 (PV⁺, PV⁻) はMCTD/Overlap症候群においてNT-proBNP (52.0%, 72.0%) と、NT-proBNP BNPがBNP, ANP, cGMPに比してCPH診断における最も優れた診断精度をもつことが明らかとなった。

3-7. 肺高血圧症を合併した膠原病患者に対する肺高血圧症を合併した膠原病患者に対するエンドセリン受容体拮抗剤ボセンタンの効果に関する研究（京谷）： 生命予後不良の重症肺動脈性肺高血圧症17例にエンドセリン受容体拮抗剤ボセンタンを投与しその有効性について検討した。3ヶ月後の評価では血行動態は有意に改善し、6分間歩行距離も向上した。エンドセリン受容体拮抗剤ボセンタンは膠原病性肺動脈性肺高血圧症において有効であり、長期の中心静脈カテーテル留置を余儀なくされるエポプロステノール持続静注療法に対して経口投与可能なところから、適応対象症例は多数であると予想される。

4. 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を含むデータベースを作成して、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。

5. 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抗体がいかんして産生され、病態にどのようにか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や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の治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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表」参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

抗U1RNP抗体陽性膠原病患者の肺動脈性肺高血圧症に対する副腎皮質ステロイド療法の検討 （多施設共同研究）

主任研究者： 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・教授）
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）

研究要旨

本邦において膠原病に合併する肺動脈性肺高血圧症（PAH）は抗U1RNP抗体陽性患者に多い。MCTDにおけるPAH治療のガイドラインでは、抗凝固療法と酸素療法を行った上で膠原病の活動性評価を行い、活動性があった場合、あるいは活動性がなくてもPAH発症早期にはステロイドや免疫抑制薬を考慮するとされている。しかしステロイドのPAHに対する有効性のエビデンスはまだ不十分である。本研究では、班員が所属する多施設共同の前向き研究により抗U1RNP抗体陽性PAH患者に対する副腎皮質ステロイドの有用性を調べることにより、MCTDを中心とした抗U1RNP抗体陽性膠原病に合併したPAH治療法に関するエビデンスをより明確にすることを目的とする。なお本年度は本研究に関するワーキンググループを結成し、その試験プロトコールを作成した。

A. 研究目的

肺高血圧症は難治性血管病変である。特発性肺高血圧症（IPH）のみならず、混合性結合組織病（MCTD）や強皮症などの膠原病に伴うPHもしばしば临床上問題となり、IPHと同様生命予後は悪い。本邦では、膠原病に合併する肺動脈性肺高血圧症（Pulmonary Arterial Hypertension: PAH）はMCTDをはじめとした抗U1RNP抗体陽性患者に認められることが多い。ループス腎炎における抗DNA抗体のように、膠原病の多くの病態には自己免疫異常（に起因する炎症）が関与することが広く知られているが、PAHに直接関与する自己免疫異常は明らかではない。しかし、抗血管内皮細胞抗体や抗U1RNP抗体などPAHの成因に自己抗体が関与している可能性は充分考えられる。またレトロスペクティブな検討では、MCTDや全身性エリテマトーデス（SLE）の急性期に副腎皮質ステロイド薬（以下ステロイド）、あるいは免疫抑制薬を導入あるいは増量することによりPAHが改善する例が報告されている。MCTDに伴うPAHの治療ガイドライン（混合性結合組織病に関する研究

班発行、混合性結合組織病の治療ガイドライン pp.33、平成17年）では「MCTDに活動性がなくても、PHの発症機序に免疫異常を想定して、早期例にはステロイドを投与することがある。プレドニゾロンを中等量以上、30-60 mg/日で投与するが、その有効性にエビデンスが乏しいので、効果がないと判断すれば減量、中止する」と記載されており、PAHの早期（NYHA I-II）または進行例には膠原病の活動性が明らかでなくても「エビデンスは乏しいが、ステロイド薬を一度試してみる価値はある」と記載されている。

本研究では、抗U1RNP抗体陽性PAH患者における副腎皮質ステロイド薬の有効性を、膠原病を専門とする多施設共同でプロスペクティブに検証することを目的とする。抗U1RNP抗体陽性の膠原病に伴うPAH患者において、ステロイドにより自他覚所見（息切れや6分間歩行距離）や検査所見（心臓超音波検査）の改善が得られるのかを多施設でプロスペクティブに観察する。最終的な目的は膠原病に伴うPAH治療に関するエビデンスを構築することであり、本研究で上記が改善された症例が多く確認されれば、PAH

に対して抗炎症療法・免疫抑制療法の有効性が示唆されるため、次のステップとしてステロイドと免疫抑制薬との比較を行いたいと考えている。

B. 研究方法

1. 研究組織

責任医師：

三森経世（京都大学大学院医学研究科教授）

共同研究施設（担当医師）：

- 1) 京都大学大学院医学研究科臨床免疫学（藤井隆夫）*
- 2) 北里大学健康管理センター（岡田 純）
- 3) 東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科（川畑仁人）
- 4) 国立循環器病センター心臓血管内科（京谷晋吾）
- 5) 東海大学医学部内科学系（諏訪 昭）*
- 6) 順天堂大学医学部膠原病内科（高崎芳成）
- 7) 東京大学附属医科学研究所先端医療研究センター（田中廣壽）
- 8) 東京女子医科大学附属膠原病リウマチ痛風センター（原まさ子）
- 9) 国立国際医療センター膠原病科（三森明夫）*
- 9) 藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科（吉田俊治）*
- 10) 岩手医科大学医学部病理第一講座（澤井高志）
- 11) 慶応義塾大学内科（桑名正隆）

*を本研究ワーキンググループとした

2. 目標症例数

登録期間が比較的短く、PAHは高頻度の病態ではないため、12施設で各施設2-3例を見込み、目標解析症例数として30例（全施設合計）とした。

3. 適格基準

3-1. 選択基準

MCTDあるいは抗U1RNP抗体陽性の全身性リウマチ性疾患患者（膠原病、関節リウマチはもちろん、分類不能膠原病も含む）で、PAH（厚生省MCTD調査研究班基準、ただし原則として

収縮期の肺動脈圧が40mmHg以上の症例）を有し、かつ以下の①あるいは②のいずれかの条件を有する場合に限る。患者の性別、年齢、罹病期間は問わない。

①その疾患活動性の上昇から新たにステロイドの導入あるいは増量が必要となる症例。

②PAHが早期(NYHA I-II度で、PAHに関する明らかな臨床症状が出現する以前)であるか進行性である場合。この場合、原病の疾患活動性の有無は問わない。

3-2. 除外基準

a) 慢性肺動脈血栓塞栓症に伴う PH、薬剤性 PH、肺線維症に大きく依存すると考えられる PH 患者

b) 3ヶ月以内に、ステロイド、免疫抑制薬、ボセンタン、エポプロステノール、ベラプラスト、シルデナフィル、カルシウム拮抗薬を新規に導入（または増量）されている患者、また3ヶ月以内に血液浄化療法がおこなわれた患者。

c) その他、主治医が、ステロイド導入あるいは増量により有害事象が発生する確率が高いと考えた患者（たとえば強皮症腎のリスクが高いと考えられる患者など）。

d) 治験薬を投与されている患者。

4. 治療計画

1) ステロイドについて

1) -1 ステロイド投与量

主治医の判断にゆだねるが、原則としてプレドニゾロン換算で30mg/日（あるいは0.5mg/kg）以上で導入（あるいは増量）とする。

1) -2 ステロイド投与方法

増量あるいは新たに導入したステロイドは同量で2週間以上継続する。その後の増量や減量は主治医の判断にゆだねるが、原則として1週間から2週間おきに10%程度の減量として、それ以上はやく減量しないこととする（重篤な副反応が認められた場合をのぞく）。

2) 治療期間および併用薬について

治療期間は6ヶ月間とする。その後は主治医の判断によりステロイド量を調節する。治療期間中は免疫抑制薬（抗リウマチ薬含む）、ボセンタン、エポプロステノール、ベラプラスト、シル

デナフィル、カルシウム拮抗薬、血液浄化療法の新たな導入や増量はしないものとする。

3) 中止基準

下記の自他覚症状、検査項目を総合的にみたらうえで臨床的に悪化し、血管拡張薬の使用など他の薬剤への切り換えが好ましいと考えられた場合、早急にステロイドを減量または中止すべき有害事象が現れた場合、患者が同意を撤回した場合、その他担当医師が不適格であると判断した場合には、試験を中止し、それまでのデータを解析する。

5. 観察・検査項目

1) 試験エントリー（患者同意）前の評価

・血液検査（患者同意からさかのぼって1ヶ月以内*にされていれば再検不要）

-抗U1RNP抗体、抗リン脂質抗体、MPO-ANCAを含む自己抗体・抗核抗体（臨床症状に応じて）
-血清KL-6

・心臓超音波検査（患者同意からさかのぼって1ヶ月以内にされていれば再検不要）

-収縮期肺動脈圧が40mmHg以上であることを確認

・胸部CT（患者同意からさかのぼって半年以内*にされていれば再検不要）

・肺血流シンチグラム（患者同意からさかのぼって1年以内*にされていれば、再検不要）

*肺高血圧症を有する期間であること。その時点で肺高血圧症の診断がなされていなければ、肺高血圧症診断後に再検すること。

2) エンドポイント

以下に示す評価項目を用い、肺動脈圧低下を含めた血行動態の改善に加え、NYHA分類の改善、6分間歩行の改善をエンドポイントとする。

3) ステロイド増量（導入）前、導入1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月後（あるいは試験中止時）における評価項目

・自覚症状（Borg dyspnea index）

・身体所見

-心拍数、血圧

-NYHA分類

-肺高血圧症に関する理学所見（胸骨左縁収縮期

拍動、第II肺動脈音の亢進）

-右心不全徴候

・血液検査

-UA、TB、CRP、赤沈値、血清IgG、免疫複合体、および原病の疾患活動性指標となる項目（たとえばSLEの場合、血清抗DNA抗体価など）

-血中BNP値

・心臓超音波検査（1ヶ月か3ヶ月後のどちらか一方で可、ただし6ヶ月後[あるいは試験中止時は必ず施行する）

-肺動脈圧三尖弁逆流より求めた右室右房収縮期圧較差あるいは肺動脈収縮期圧

-肺動脈弁逆流より求めた肺動脈右室拡張期圧較差あるいは肺動脈拡張期圧

（肺動脈弁逆流が認められた症例のみ）

-肺動脈平均圧（上記の両方を測定しえた症例のみ）

-心拍出量

（肺動脈あるいは大動脈弁部の流速と血管径から算出、測定しうる施設のみ）

-肺血管抵抗（肺動脈平均圧と心拍出量が測定できた場合のみ）

-右心負荷所見とし、左心室短軸像から左心室長径、短径（拡張早期あるいは拡張末期とし同一症例では常に同じ時相を計測する）を測定

追記：

1. 肺動脈収縮期圧は右室右房収縮期圧較差+10とする。

2. 肺動脈拡張期圧は拡張末期肺動脈右室拡張期圧較差+10とする。

3. 肺動脈平均圧は（収縮期圧+拡張期圧x2）/3とする。

4. 心拍出量は一拍の平均流速x血管断面積x心拍数とする。

5. 肺血管抵抗は肺動脈平均圧/心拍出量とする。

・運動耐用量

-6分間歩行距離

この場合、関節炎や筋力低下がある場合には、ステロイド投与によって変化することがあるのでその旨調査票に記載すること。また在宅酸素使用時には、原則として酸素を中止し、15分間安静としてから歩行させること。なお

酸素中止が望ましくない場合には吸入を継続してよいが、酸素ボンベの移動（携帯）条件が変わらないように注意すること。

- ・原病活動性の評価（たとえばSLEの場合、SLEDAI/BILAGの測定）

追記

1.ステロイド増量（導入）前の検査に関して、いずれもステロイド増量（導入）開始日からさかのぼって1ヶ月以内に行われていればそのデータを利用する。

2.試験期間終了後（ステロイド増量・導入6ヶ月後）の評価では、心臓超音波検査も含め、ステロイド増量（導入）後6ヶ月以上9ヶ月以内であれば可とする。

4) ステロイド導入前と6ヶ月後（あるいは試験中止時）に検査する項目

-血清採取（抗血管内皮細胞抗体、サイトカインなどの研究用、血清として5 ml以上）

-動脈血液ガス分析

-胸部レントゲン、ECG

-肺機能検査（%VC、DLCO）

追記

1. ステロイド増量（導入）前の検査に関して、いずれもステロイド増量（導入）開始日からさかのぼって3ヶ月以内に行われていればそのデータを利用する。

2. 試験期間終了後（ステロイド増量・導入6ヶ月後）の検査は、ステロイド増量（導入）後6ヶ月以上9ヶ月以内に行われていれば可とする。

6. 有害事象

1) 有害事象の定義

試験期間中におきた、あらゆる好ましくないあるいは意図しない徴候、症状または疾病を有害事象とする。

2)有害事象の評価と報告

有害事象がみられた場合はその症状、発現時間・程度、転帰、被疑薬およびステロイドとの因果関係、および処置をカルテに記載する。

3)予期される有害事象

ステロイドによる副反応として、感染症、骨粗鬆症、無菌性骨壊死、動脈硬化、副腎不全、消

化管障害、糖尿病、精神障害、白内障、緑内障、高血圧、高脂血症、低カリウム血症、異常脂肪沈着（中心性肥満、満月様顔貌）、座瘡、皮膚線条、白血球増多などがある。

4) 有害事象への対応

有害事象が生じた場合には速やかに加療を行う。

7. 倫理的事項

1) 患者への説明

試験実施の前に、担当医師が対象患者本人に本試験説明書を用いて試験の内容を説明する。同意書に必要事項と署名を記入することで、試験への自由意志による患者の参加の同意を得る。同意書と説明書は診療録に保存し、同意を得られた患者には同意書のコピーと説明書を渡す。

2) 本研究により増える負担

本研究に参加することによる入院期間の延長や通院回数の増加はなく、試験前後の採血量の増加（10ml）のみである。

3) 個人情報の保護

患者情報は各施設にて暗号化し、年齢、性別、治療経過（自覚症状、身体所見を含む）、検査所見および血清を京都大学事務局に送付する。その匿名化した（記号を付した）状態で患者データと血液は当科コーディネーター、山川範之に供与するものとする。また個人情報の保護のため、当院の患者も山川が暗号化し、その後の検討を行う。

C. 結果（進捗状況）

現在、共同研究各施設において倫理委員会申請中であり、承認された施設から随時試験を開始する予定である。

D. 参考文献

- 1) Nishimaki T, Aotsuka S, Kondo H, et al. Immunological analysis of pulmonary hypertension in connective tissue diseases. J Rheumatol 26: 2357-2362, 1999.
- 2) 佐々木信人、黒瀬 颯、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: 886-894, 2002.

- 3) Bodolay E, Csipo I, Gal I, et al.
Anti-endothelial cell antibodies in mixed connective tissue disease: frequency and association with clinical symptoms. Clin Exp Rheumatol 22: 409-415, 2004.
- 4) Okawa-Takatsuji M, Aotsuka S, Fujinami M, et al.
Up-regulation of intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and class II molecules on pulmonary artery endothelial cells by antibodies against U1-ribonucleoprotein. Clin Exp Immunol 116: 174-180, 1999.
- 5) Tanaka E, Harigai M, Tanaka M, et al.
Pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus: Evaluation of clinical characteristics and response to immunosuppressive treatment. J Rheumatol 29: 282-287, 2002.
- 6) Sanchez O, Sitbon O, Jais X, et al.
Immunosuppressive therapy in connective tissue disease-associated pulmonary artery hypertension. Chest 130: 182-189, 2006.
- 7) 吉田俊治. MCTDの治療指針. 肺高血圧症. 混合性結合組織病 (MCTD) の治療ガイドライン. 混合性結合組織病に関する研究班編. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業. 2005.

抗U1RNP抗体およびその免疫複合体の病原性に関する研究

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： 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

MCTD患者血清で高力価陽性となる抗U1RNP抗体あるいはその免疫複合体の病原性を明らかにすることを最終的な目的として、MRL/lprマウス脾細胞から抗U1RNP抗体を産生するB細胞ハイブリドーマを分離した。ハイブリドーマは少なくとも3種類分離された。1) #1, 11, 121はいずれもRNA-IPP（免疫沈降法）でU1RNAを、蛋白-IPPで抗U1RNP抗体と同様のパターンを示したが、ELISAでは陰性であった。2) #104はRNA-IPPでU1RNAを沈降し、ELISAにて抗U1RNP抗体/抗U1-C抗体が陽性であった。また3) #64はRNA-IPP、蛋白-IPPでは陰性であったが、ELISAにて抗U1RNP抗体/抗U1-70K抗体が陽性であった。免疫ブロット法（IB）では、#64は70kDa蛋白よりも45kDa蛋白に強く反応し、apoptotic U1-70Kに対する抗体である可能性が示唆された。今後これらのB細胞ハイブリドーマから分泌されるIgGを限界希釈法により単離精製した上でIgGサブクラスを確認し、*in vitro*および*in vivo*において病原性を調べるため、免疫複合体の作成を行う予定である。

A. 研究目的

抗U1RNP抗体は、膠原病患者血清中で高頻度に検出される抗核抗体で、特にMCTDでは高力価となる。以前からレイノー現象などの一部の病態と抗U1RNP抗体との関連は示唆されているが、抗U1RNP抗体やその免疫複合体が病原性を有するかについては明確なエビデンスはない。抗U1RNP抗体は、高力価陽性であるにもかかわらず無症状の患者も散見されることから、抗DNA抗体のような病原性を有するとされる抗核抗体とは明らかに異なる。また原病の活動性と抗U1RNP抗体価の相関がないことから、治療反応性の指標としての有用性も否定的であると考えられてきた。

われわれは一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肺動脈性肺高血圧症（PAH、Pulmonary Arterial Hypertension）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、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。しかしながら、血清中には多くの自己抗体が含まれていると考えられるため、抗U1RNP抗体単独の効果と判断することはできなかった。

そこで今回われわれは、抗U1RNP抗体（やその免疫複合体）が*in vitro*および*in vivo*において何らかの影響を与えるかを明確にするため、その第一段階としてループモデルマウスを用いて抗U1RNP抗体モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを作成した。

B. 研究方法

抗U1RNP抗体陽性のMRL/MP-*Fas*^{lpr/lpr}

（MRL/lpr）マウス脾細胞をマウスミエローマ細胞であるSP2/0-Ag14と融合させた。数多くのハイブリドーマが分離されたが、それらの上清中の抗核抗体を以下の方法でスクリーニング

した。

1) HeLa細胞抽出物を用いたRNA-免疫沈降法 (RNA-IPP)

HeLa細胞抽出物と、プロテインAセファロースビーズと結合させたハイブリドーマ上清中のマウス免疫グロブリンを反応させ、その結果生じた免疫複合体中のRNAをフェノール抽出およびエタノール沈殿により抽出し、Urea-PAGEにて検討した。なお染色は銀染色を用いた。

2) ELISA

抗U1RNP抗体 (Mesacup[®]-2テスト RNP、MBL社) および抗D抗体 (Mesacup[®] Sm テスト、MBL社) を検出するELISAを用いた。またU1RNPの構成成分である70K、A、C蛋白に対する反応を、各蛋白を固相化したELISA (MBL社) により検討した。なお抗Sm抗体を分泌するハイブリドーマであるY12の上清をコントロールとして用いた。

3) 免疫プロット法

HeLa細胞抽出物を抗原として用いた。二次抗体はアルカリフォスファターゼ (AP) -標識抗マウスIgG抗体を用い (ただしヒト血清を一次抗体とした場合には、AP-標識抗ヒトIgG抗体)、NBT/BCIPを基質として発色させた。

C. 研究結果

1. 免疫沈降法 (IPP)

多数のハイブリドーマ上清とHeLa細胞抽出物を用いて免疫沈降法を行ったところ、#1、11、104、121の上清を用いた場合にU1RNAのバンドが検出された。また蛋白IPPでは#1、11、121が患者抗U1RNP抗体とほぼ同様のパターンを示し、抗U1RNP抗体と考えられたのに対し、#104は患者血清とは異なるパターンを示していた (図は示していない)。分離したハイブリドーマのなかには、他にも核成分を沈降した上清があったが、抗U1RNP抗体あるいは抗Sm抗体と同様のパターンを示したものはなかった。

2. ELISA (図1)

次に同じハイブリドーマ上清を用いてELISAを行った。抗U1RNP抗体測定用のキットを用いたところ、#64と104で陽性となった。しかしなが

ら他のハイブリドーマ上清は陽性と判定されるものはなかった。また#64は抗U1-70K抗体が陽性であり、#104は抗U1-C抗体が陽性であった。なおわれわれが分離したハイブリドーマのなかにはA蛋白と反応するものはなかった。また抗Sm抗体のハイブリドーマであるY12は抗D抗体と反応し、他のU1RNP抗原とは反応しなかった。

3) 免疫プロット (IB) (図2)

さらにHeLa細胞抽出物を抗原とし、IBを行った。#1は18kDa、#11は100kDaと18/17kDa蛋白、#64は45kDaと31kDaの蛋白に強く反応したほか、100kDaや28kDa、17kDa蛋白に反応した。#104はC抗原と考えられる18kDa蛋白に反応した。

D. 考察

抗U1RNP抗体の機能を検討した報告は少ない。大川らはヒト抗U1RNP抗体を精製し、それをHPAECに添加したところ、細胞表面上のICAM-1、ELAM-1およびMHC class IIの発現が亢進することを示した。しかし、これは抗DNA抗体を用いた場合でも同様の結果が得られ、抗U1RNP抗体に特異的なものではなかった。また *in vivo* で、肺高血圧症のような病態を誘導できるかは不明である。また近年、自己免疫疾患とPattern Recognition ReceptorであるToll-like receptor (TLR)との密接な関連が報告されている。SLE患者血清から分離した免疫複合体 (IC) は、B細胞や樹状細胞 (DCs) に発現しbacterial CpG DNAのレセプターであるTLR9を介してこれらの細胞を刺激することが示され、innate immunityが自己免疫現象の活性化に関与している可能性が示唆されている。膠原病患者血清中に認められる抗核抗体には核酸を直接認識、あるいは核酸結合蛋白を認識する抗体が多い。抗U1RNP/Sm抗体免疫複合体あるいはU1/Sm-RNAも、viral ssRNAのレセプターであるTLR7を介してplasmacytoid dendritic cells (pDCs) を刺激し、IFN α やIL-6の分泌を刺激することが示された。IFN α は活動性のSLE血清中で高濃度となり、それらはDCsの分化や成熟に関与する。また同様にplasmacytoid DCsから分泌されるIL-6は、T細胞の分化やTregの抑制に働くと考え

る。しかしながらこの結果も、特異的な疾患や病態と抗U1RNP抗体・抗U1RNP抗体免疫複合体との関連を明確にするものではない。

今回3種類の抗U1RNP抗体を産生すると考えられるハイブリドーマを分離した。特に#64は、ELISAでは70K蛋白に反応し、免疫プロット

(IB)では70kDa蛋白よりも45kDa蛋白に強く反応した。これは#64がすでに患者血清で報告のある抗apoptotic U1-70K抗体を産生するハイブリドーマであることを示唆する。apoptotic U1-70KのB細胞エピトープは70K蛋白のT細胞エピトープに含まれ、かつ70K蛋白のU1RNA結合部位である180-205アミノ酸である可能性が示唆されているが、これらペプチドを固相化したELISAでは検出できず、確定されていない。しかしながらintact U1-70KのB細胞エピトープとは異なることは確認されている。さらにSLEや強皮症にくらべてMCTDで抗apoptotic U1-70K抗体が高頻度であり、それが抗U1RNP抗体高力価陽性と関連しているとする報告がある。また抗apoptotic U1-70K抗体は疾患活動性とは相関しないが、病初期に出現し、その後抗intact U1-70K抗体へとepitope spreadingする可能性が報告されている。われわれの実験で、#64の上清が70kDaよりも45kDaに強く反応した理由としては、IBで用いた細胞がアポトーシスを起こしており、intact U1-70Kよりもapoptotic U1-70Kのタンパク量が細胞内で優位となっていたためと考えられる。今回は示していないが、細胞によってIBで70kDaのバンドが45kDaのバンドと同様に検出されることもあった。また#104は抗U1-C抗体と考えられる。蛋白-IPPでは多くのバンドが認められ、またIBでもC蛋白に対する反応は強くなかった。これは#104がまだ単クローンになっていない可能性を示唆する。

なお#1、11、121のハイブリドーマについては、ELISAで反応しなかったことから、その認識部位が構造エピトープである可能性がある。またIBにおいて18/17kDa蛋白と反応していることから、抗リボゾーマルP抗体など他の抗体である可能性も否定できず、今後検討の余地がある。

今後限界希釈法を行った上で、それぞれのハイブリドーマのIgGサブクラスを明確とし、免疫複合体の作成をおこなったうえで、HPAECなど培養細胞を用いた*in vitro*での検討、さらには正常マウスへの投与によりいかなる自己免疫現象が誘導されるかといった*in vivo*の検討を行う予定である。

E. 結論

Y12とは異なる抗U1RNP抗体を産生するB細胞ハイブリドーマを分離した。それらは抗U1-C抗体および抗apoptotic U1-70K抗体であると考えられるが、その病原性についてはさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

1. Hajime Yoshifuji, Takao Fujii, et al. Anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies in clinical course prediction of interstitial lung disease complicated with idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity*. 2006; 39(3):233-241.
2. Yoshimasa Fujita, Takao Fujii, et al. Successful treatment of primary Sjögren's syndrome with chronic natural killer lymphocytosis by high-dose prednisolone and indomethacin farnesil. *Int Med* 2007; 46(5): 251-254.
3. 藤井 隆夫. 膠原病における抗核抗体の産生機序とその病原性. *日本臨床免疫学会会誌*2006; 29: 57-64.
4. 藤井 隆夫. 膠原病のプライマリ・ケア - 早期診断と治療方針- 混合性結合組織病. 膠原病診療のA to Z. *総合臨床* 2007; 56: 518-523.

2.学会発表

1. 川端 大介、藤井 隆夫、他. SLE の難治性病態に対する抗 CD20 抗体投与 3 症例の臨床的検討. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
2. 徳永 美貴子、斉藤 和義、藤井 隆夫、他. 難治性 neuropsychiatric SLE (NP-SLE) に対する抗 CD20 抗体療法の効果. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
3. 佐藤 毅、藤井 隆夫、他. 精神神経症状を呈した膠原病患者の血清と髄液中における抗 U1RNP 抗体測定の意義. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
4. 村上 孝作、吉藤 元、藤井 隆夫、他. 抗 Ku 抗体の臨床的意義の検討. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
5. 小林 志緒、臼井 崇、藤井 隆夫、他. コラーゲン誘導関節炎特異的な治療法の試み – 続報：活性型 TGF- β 発現レトロウイルスを抗原特異的 T 細胞に導入すると多量の IL-10 を産生する抗原特異的 Tr-1 細胞となる. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
6. 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 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
7. 橋本 美季子、吉藤 元、藤井 隆夫、他. 悪性腫瘍関連筋炎における臨床的特徴の解析. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
8. 湯川 尚一郎、佐藤 毅、藤井 隆夫、他. 高度の血栓性微小血管症に対して全血漿交換療法は無効であり ACE 阻害薬が著効した正常血圧強皮症腎クリーゼの一例. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
9. 中嶋 蘭、川端 大介、藤井 隆夫、他. びまん性肺胞出血 (DAH) に対し二重膜濾過血漿交換療法 (DFPP) が有効であった SLE の 2 症例. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006 年 4 月.
10. Takeshi Sato, Takao Fujii, et al. Detection of anti-U1RNP antibodies in cerebrospinal fluid in patients with systemic lupus erythematosus. The Annual European Congress of Rheumatology. Amsterdam, 2007 年 6 月.
11. Takao Fujii, Yoshimasa Fujita, Takeshi Sato, et al. Association between IgG subclasses reactive with U1RNP particles and disease activity in Japanese patients with systemic rheumatic diseases. The 12th APLAR Congress Asian Rheumatology. Kuala Lumpur, 2006 年 8 月.
12. Yoshitaka Imura, Masao Tanaka, Takao Fujii, et al. Analysis for transfer RNA-associated autoantigen recognized by anti-Wa antibodies in patients with scleroderma. The 12th APLAR Congress Asian Rheumatology. Kuala Lumpur, 2006 年 8 月.
13. Ran Nakashima, Yoshitaka Imura, Takao Fujii, et al. Prediction of clinical course and prognosis of rheumatoid arthritis by autoantibodies. The 12th APLAR Congress Asian Rheumatology. Kuala Lumpur, 2006 年 8 月.
14. 湯川 尚一郎、川端 大介、他. SLE の肺胞出血. 第 21 回日本臨床リウマチ学会、東京、2006 年 11 月.
15. Takao Fujii, Guo Shengyu, Tong Xiaopeng, et al. Newly identification of autoantibodies against human pulmonary artery endothelial cells in sera from patients with anti-U1RNP antibodies. The 70th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. Washington DC, 2006 年 11 月.
16. Yoshitaka Imura, Masao Tanaka, Takao Fujii, et al. NEFA recognized by anti-Wa antibodies is a transfer RNA-associated autoantigen involved in secretion. The 70th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. Washington DC, 2006 年 11 月.
17. Masao Tanaka, Shoichi Ozaki, Takao Fujii, et al. Cloning and analysis of the receptor molecule for a novel arthritis-modifying factor,

- follistatin-related protein (FRP)/TSC-36/FSTL1. The 70th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. Washington DC, 2006年11月.
18. Shio Kobayashi, Takashi Usui, Takao Fujii, et al. Antigen specific immunotherapy using TGF-beta expressing retrovirus and type II collagen specific CD4+ T cells in type II collagen induced arthritis. The 70th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. Washington DC, 2006年11月.
 19. Kosaku Murakami, Hajime Yoshifuji, Takao Fujii, et al. Clinical manifestation of patients with anti-Ku antibodies. The 70th Annual Meeting of the American College of Rheumatology. Washington DC, 2006年11月.
 20. Takao Fujii, Takeshi Sato, Yoshimasa Fujita, et al. Generation of regulatory antibodies against T cell receptor by vaccination with CD4+ Th1 clones in lupus-prone mice. 第36回日本免疫学会総会、大阪、2006年12月.
 21. Masao Tanaka, Daisuke Kawabata, Takao Fujii, et al. Gene expression profiles of affected joint tissues in the arthritic mice treated with follistatin-related protein (FRP)/FSTL1. 第36回日本免疫学会総会、大阪、2006年12月.
 22. Mikiko Hashimoto, Takashi Usui, Takao Fujii, et al. The immunological effects of the calpain- calpastatin system on CD4+ T cell and fibroblast function. 第36回日本免疫学会総会、大阪、2006年12月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

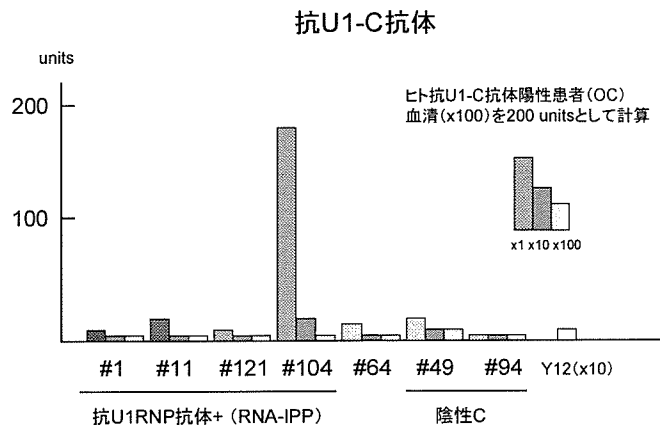
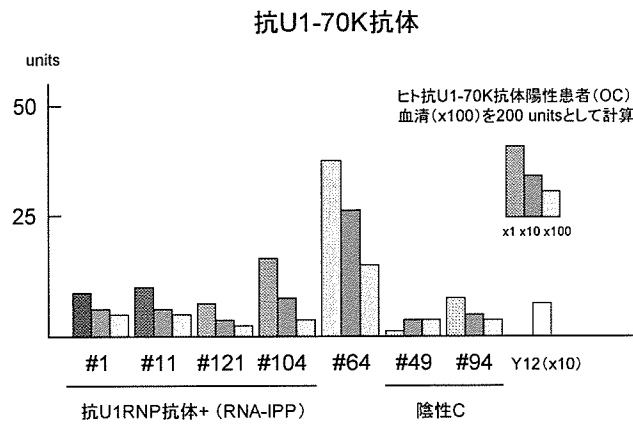
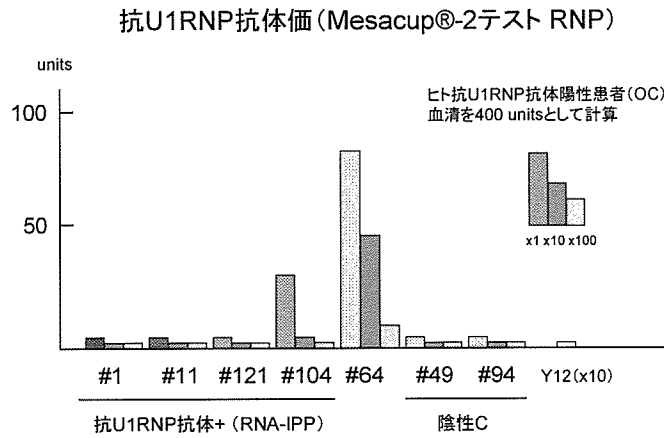


図1. ELISAを用いた抗U1RNP抗体産生ハイブリドーマ上清反応性の検討.

#104と#64ハイブリドーマ上清は抗U1RNP抗体と反応した。まU1RNPを構成するそれぞれの蛋白との反応性を調べると、#64は抗70K抗体であり、#104は抗C抗体であることが確認された。IPPでは陽性と考えられた#1、11、121は全U1RNP、70K、A、C蛋白のいずれにも反応せず、構造エピトープを認識している可能性あるいは他の（自己）抗体である可能性が否定できなかった。