

Figure 3. Quantitative immunohistochemical analysis of mononuclear cells in muscles of mice with C protein-induced myositis. Frequencies of CD8, CD4, CD11b, and B220 cells in the infiltrating mononuclear cells at endomysial, perimysial, and perivascular sites are shown. Values are the mean \pm SD percentage of each cell subset and mean \pm SD CD4:CD8 ratio at 5 inflammatory mononuclear cell foci. The total mononuclear cell counts in the endomysial, perimysial, and perivascular sites were 1,385, 506, and 543, respectively.

(incidence 50%, mean \pm SD histologic score 0.6 ± 0.7). Inflammation of the muscle tissue peaked on days 14 and 21 after the immunization (incidence 100%, histologic scores 2.6 ± 0.3 and 2.8 ± 0.2 , respectively) and started to resolve after day 28 (incidence 100%, histologic score 1.4 ± 0.6). On day 49, mononuclear cell infiltration was absent from most skeletal muscles. On days 35, 49, and 63, the histologic scores were 0.5 ± 0.6 , 0.1 ± 0.2 , and 0.0 ± 0.0 , respectively, and the incidences of CIM were 38%, 10%, and 0%, respectively.

Other strains of mice were immunized with fragment 2 of the C protein in the same manner as in B6 mice, and the muscles were examined histologically. Studies of 4 or 5 mice per strain showed that myositis developed in NZB and SJL/J mice with an incidence similar to that in B6 mice. However, the mononuclear cell infiltration was less intense. The mean \pm SD histologic scores were 1.8 ± 0.6 and 1.3 ± 0.3 in NZB and SJL/J mice, respectively. No inflammation was observed in the muscles from BALB/c, DBA/1, C3H/He, or MRL/Mp+/+ mice immunized with C protein fragments.

Immunohistochemical findings in muscles of mice with CIM. Localization of CD4 and CD8 T cells was studied with double immunofluorescence labeling or immunohistochemical staining of muscle sections. CD4 cells diffusely infiltrated the endomysial, perimysial, and perivascular sites. In contrast, CD8 cells infiltrated preferentially the endomysial site (Figures 2A and B), which was reflected equally well in the CD4:CD8 cell

ratios. Double immunofluorescence staining of CD4 and CD8 cells showed that the mean \pm SD CD4:CD8 ratios in the endomysium, perimysium, and perivascular site were 1.0 ± 0.1 , 3.3 ± 0.3 , and 3.5 ± 0.4 , respectively, which was consistent with the ratios derived from immunohistochemical staining (Figure 3). The frequency of CD8-positive cells in endomysial sites was higher than that in perimysial and perivascular sites, whereas the frequencies of CD4-positive T cells were similar among the 3 sites (Figure 3).

B cells and macrophages were identified by staining with B220 and CD11b antibodies, respectively. CD11b-positive cells were most abundant among the infiltrating cells in all 3 sites (Figures 2C and D and Figure 3). Although natural killer cells are also CD11b positive, our analysis of CD68 and CD11b expression in serial sections showed that $93.4 \pm 4.3\%$ (mean \pm SD) of CD11b-positive cells were CD68-positive cells, indicating that the majority of CD11b-positive cells were macrophages.

B cells were sparse in the muscle tissue, especially in the endomysial and perimysial sites (Figure 3). Perforin-positive cells were present mostly (82%) around non-necrotic muscle fibers at the endomysial site (Figure 2E) and were sparse in the perimysial and perivascular sites (results not shown). Thus, the distribution of perforin-positive cells corresponded well to that of CD8-positive cells. When muscle fibers were stained with anti-H2K^b (class I MHC) and anti-I-A^b (class II MHC) mAb, they reacted to the anti-class I

MHC mAb (Figure 2F) but not to the anti-class II MHC mAb (results not shown).

Pathologic role of CD8 and CD4 T cells in CIM.

Histologic studies have demonstrated that CD8 T cells function as effector cells in injury of muscle fibers. To establish the pathologic role of CD8 T cells, B6 mice were pretreated by removal of circulating CD8 T cells using specific mAb. Ten days after injection of the antibodies for 3 consecutive days, CD8 T cells in the spleens were depleted to fewer than 2%. The mice were then immunized with C protein and treated with the same antibodies every other day for 14 days. The muscles were examined histologically 14 days after the immunization, when the frequency of CD8 T cells in the spleens and lymph nodes was still less than 2%. The number of CD4 T cells in the spleens and lymph nodes was maintained in the CD8-depleted mice.

Significantly fewer CD8-depleted mice developed myositis compared with control mice, with a 33% incidence of disease compared with 100% in controls (Table 1). The histologic scores of the treated mice were significantly lower than that of the controls. It is known that CD4 T cells help CD8 T cells develop into mature cytotoxic T lymphocytes. They also have the potential to injure muscle fibers. Therefore, CD4 T cells were removed with specific mAb in the same manner as described above for CD8 T cells. The pretreated mice exhibited fewer than 2% of circulating CD4 T cells, and were then immunized for CIM induction. They also developed a milder myositis compared with control mice (Table 1).

Investigation of essential immunologic mediators in mutant mice. Mice with CIM developed serum antibodies directed to C protein. They also developed low-titer autoantibodies with a cytoplasmic pattern or homogeneous and speckled nuclear patterns on Hep-2 staining, which proved to be nonreactive to PM-associated autoantigens (results not shown). However, the contribution of these autoantibodies to myositis was unclear.

The susceptibility of B6 mice to CIM allowed us to study the contribution of different immune mediators to myositis using genetic mutant mice. *Igμ*-null mutant mice developed CIM with features and a frequency comparable with those in control wild-type (WT) mice (Table 1). These findings indicate that the functions of B cells and immunoglobulins are not necessary for the development of CIM.

Inflammatory cytokines such as IL-1 and TNF α are known to be expressed in mononuclear cells infiltrating the muscles of mice with PM (25,26). Our

Table 1. Studies of the pathologic features of C protein-induced polymyositis (CIM) and effects of treatment with intravenous immunoglobulin (IVIG)*

Experiment, mouse group	Incidence of CIM, %	Muscle blocks involved, %†	Histologic score, mean \pm SD
CD8 depletion			
CD8-depleted	33	25	0.6 \pm 1.0‡
Rat IgG-injected	100	100	1.9 \pm 0.6
CD4 depletion			
CD4-depleted	60	50	0.7 \pm 0.7‡
Rat IgG-injected	100	100	2.0 \pm 0.4
Igμ-null			
<i>Igμ</i> ^{-/-}	100	95	1.7 \pm 0.6
WT	100	100	2.1 \pm 0.7
IL-1-null			
<i>IL-1α/β</i> ^{-/-}	14	7	0.1 \pm 0.2§
WT	100	100	2.1 \pm 0.5
TNFα-null			
<i>TNFα</i> ^{-/-}	80	80	1.9 \pm 1.0
WT	100	90	2.3 \pm 0.6
IVIG			
IVIG-injected	43	36	0.6 \pm 1.1‡
Saline-injected	100	100	2.3 \pm 1.0

* Mice were immunized with 200 μ g of the recombinant C protein fragments and then examined histologically 14 or 21 days after immunization. For in vivo depletion of CD8 or CD4 T cells, 5 or 6 B6 mice were treated intraperitoneally with anti-CD8 or anti-CD4 monoclonal antibodies, while 5 or 6 control mice were treated with purified rat IgG. To demonstrate the requirement for humoral immunity, the presence of interleukin-1 (IL-1), and the presence of tumor necrosis factor α (TNF α) for the development of CIM, 5 *Igμ*-null mutant mice, 7 *IL-1α/β*-null mutant mice, 5 TNF α -null mutant mice, and 5 wild-type (WT) B6 mice were studied. IVIG was administered at a dosage of 400 mg/kg/day intravenously into the tail vein for 5 consecutive days, from day 3 after immunization. Seven mice were treated with IVIG and 6 with control saline.

† Calculated as the number of muscle blocks showing myositis divided by the total number of blocks.

‡ $P < 0.05$ versus control group.

§ $P < 0.01$ versus control group.

immunohistochemical analyses showed that these inflammatory cytokines were also found in mice with CIM (Figures 2G and H). We then studied whether the presence of IL-1 and TNF α is required for the development of CIM, using *IL-1α/β* double-null mutant and TNF α -null mutant B6 mice. Most *IL-1α/β*-null mutant mice did not develop myositis, and those that did have myositis developed a mild form (Table 1). The rotarod score of 7 for the *IL-1α/β*-null mutant mice was significantly higher than that for the 6 WT mice (mean \pm SD score 4.7 \pm 0.5 versus 1.3 \pm 0.5; $P < 0.01$). In contrast, TNF α -null mutant mice were as susceptible to CIM as the control mice, and the TNF α -null mice had a similar incidence and severity of myositis (Table 1). These results indicate the differential requirements for the roles of IL-1 and TNF α in the development of CIM.

Effects of high-dose IVIG treatment. Infusion of high-dose IVIG is effective treatment of inflammatory myopathies that are refractory to conventional immunosuppressants (27–29). Although several mechanisms of action for IVIG have been proposed, they have not been fully characterized. One possibility is that IVIG acts via suppression of pathogenic immunoglobulins and B cells. Thus, whether this treatment improves CIM, which does not depend on humoral immunity for tissue injury, is of special interest. When mice with CIM were treated with high-dose IVIG (400 mg/kg) for 5 consecutive days, beginning 3 days after immunization, the incidence and histologic severity of CIM were suppressed significantly compared with that in control, saline-injected mice (Table 1).

DISCUSSION

CIM was established as a simple murine model of PM. A single injection of mice with recombinant human muscle protein induced severe and clinically significant inflammation of the skeletal muscles. CD8 T cells were enriched in the endomysial site (the site of muscle injury) as compared with their distribution in other sites of the mouse muscle. CD8 cells expressed perforins preferentially at the endomysial site. Class I MHC expression was up-regulated on the muscle fibers. Removal of CD8 T cells significantly suppressed myositis. Thus, muscle injury in CIM appears to be driven, primarily, by cytotoxic CD8 T cells, as is assumed in human PM. In this regard, the new model provides a clear contrast to the previous EAM model, which appears to be driven by CD4 T cells. Induction of EAM requires repeated immunization with a specific mouse strain having a dysferlin gene mutation that induces spontaneous muscular degeneration and inflammation. Sensitivity of B6 mice to CIM prompted the initiation of genetic studies of the pathologic mechanisms of autoimmune myositis, which would provide information for the development of new treatments.

Muscle tissues from mice with CIM contained more CD4 T cells and macrophages than are found in patients with PM, which may reflect the acute disease course of CIM. Although we observed critical participation by CD8 T cells, CD4 T cells were also important in the development of CIM. In this regard, it has been shown that the actions of CD4 T cells are essential for full differentiation of cytotoxic CD8 T cells (30,31). Alternatively, CD4 T cells may also injure muscle tissues directly. This issue should be addressed further in future experiments.

Severe inflammation was found consistently in the proximal muscles of the lower extremities, but not in other sites. Although injection of CFA alone did not induce myositis, we assume that activation of local innate immunity by injection of the foot pad with CFA would contribute to induction of severe myositis. Unlike inflammation in human PM, inflammation in other myositis models, such as EAM and cardiac myosin-induced myocarditis, is transient (32,33). Because lipopolysaccharide injection in the recovery phase of experimental myocarditis can induce a relapse of inflammation (33), unknown factors might perpetuate the chronic disease in humans.

An elevation in the levels of creatine kinase (CK) was found in the mice with CIM. However, since some mice, including healthy animals, have unexpectedly high levels of CK, this elevation could be attributed to uncontrollable hemolysis. Lung involvement in some patients is characteristic of PM and also of dermatomyositis (DM). However, no abnormality in the lungs was observed in the mice with CIM. Considering the frequency of lung disease in PM (34), we may have to undertake extensive studies of this issue using a large number of animals.

Recombinant C protein was used to confirm its immunogenicity, as suggested in a rat myositis model induced by biochemically purified C protein (19). Large-scale production of recombinant C protein fragments in the prokaryotic expression system facilitated multiple experiments to optimize an immunization protocol and to analyze the pathologic features of myositis. Since at least 200 μg of the immunogen had to be injected to induce CIM consistently, we needed to use the back and foot pads of the mice for immunization.

The rotarod test was useful to assess muscle function in the mice with CIM at a single time point. Analysis by Spearman's rank correlation coefficient showed that the rotarod score correlated well with the histologic score ($P < 0.001$). However, this test was less useful in evaluating the disease course in these mice, because the mice could learn how to run for a longer period of time when the test was repeated. We believe that the device should be improved so that muscle function or weakness can be evaluated in an easier way.

Unlike in the EAM model, many strains of mice, including SJL/J mice, were susceptible to CIM. This fact confirms the immunogenicity of the C protein and suggests that mouse strains may have their own hierarchy of susceptibility to myositis.

Our observations of CIM induced in the B6 mice with mutations in inflammatory cytokine genes demon-

strated the importance of IL-1, but not TNF α , in the development of myositis. Previous histologic studies of PM muscle tissue showed that IL-1 and other proinflammatory cytokines, including TNF α , IL-6, and interferon- γ , are expressed by mononuclear cells in the affected muscle tissue (25). IL-1 expression by mononuclear cells accompanies expression of class I MHC molecules on the muscle fibers and expression of adhesion molecules, such as intercellular adhesion molecule 1 and vascular cell adhesion molecule 1, on endothelial cells in muscle (35). Thus, we assume that IL-1 expression of activated macrophages up-regulates expression of the class I MHC molecules, as well as that of adhesion molecules and chemokines, on muscle fibers, endothelial cells, and inflammatory cells. All of these molecules can trigger CD8-mediated muscle damage. Other studies have shown that antigen-specific T cell responses are impaired in IL-1 α / β double-null mutant mice (36,37). In the autoimmune myocarditis model, IL-1 is important for efficient activation of dendritic cells (DCs) and priming of CD4 T cells (38). IL-1 may also contribute to activation of DCs and interacting T lymphocytes.

Similar to IL-1, TNF α induces expression of class I MHC molecules on muscle fibers and expression of adhesion molecules on endothelial cells (39,40). The results of one report suggested that TNF α released from infiltrating CD8 T cells in PM muscles was responsible for the muscle damage (26). However, we found that CD8 T cells can induce typical myositis without TNF α . In this regard, experimental myocarditis is suppressed in both IL-1 receptor- and TNF α receptor-null mutant mice (38,41), and this model is mediated by pathogenic CD4 T cells (33,38). Thus, it is important to note the differences between the 2 murine myositis models.

Our results do not necessarily refute the idea that TNF α is a therapeutic target in PM. Clinical findings from sporadic reports suggest that some patients with PM respond to systemic delivery of anti-TNF α mAb (42). This fact and our results are similar to the findings in collagen-induced arthritis (CIA), which is an animal model of RA. TNF α -null mutant mice are susceptible to CIA (43), but inhibition of TNF α can improve the disease (9). Development of arthritis is suppressed in IL-1 α / β double-null mutant mice (37). Studies are in progress to investigate the therapeutic effects of IL-1 or TNF α blockade in CIM.

A high dose of IVIGs, pooled from the plasma of healthy donors, is commonly administered as treatment in patients with autoimmune disorders (44). After an initial study showing that a patient with refractory PM was successfully treated with IVIG (29), the efficacy has

been confirmed by a number of studies of patients with PM and DM (27,28). Currently, IVIG therapy is the only treatment that does not induce general immune suppression. The same treatment exerted a minor therapeutic effect in SJL/J mice in the myositis model (45). Although immunoglobulins are derived from human sera, the effect was not due to nonspecific immunomodulation by a xenogenic protein.

We found that IVIG treatment was markedly effective in CIM, suggesting its relevance as a model for human PM. When the treatment was started 8 days after immunization of the mice, the therapeutic effect appeared milder (results not shown). The mode of action of IVIGs could vary, and all of the mechanisms have not been fully characterized (46–48). Modulation of crystallizable fragment Fc γ receptor IIb on phagocytes appears to be the primary mechanism for an increase in platelet counts in patients with immune thrombocytopenia (49). Theoretically, the treatment could also down-regulate activating Fc γ receptors, increase IgG catabolism, neutralize autoantibodies and inflammatory cytokines, attenuate complement-mediated tissue damage, and modulate cytokine production by B cells and monocytes. Because development of CIM does not depend on B cells or antibodies, the efficacy of IVIG treatment for this model suggests that down-regulation of B cells or autoantibody-mediated processes are not a prerequisite to achieve improvement of PM. Further evaluation should lead to identification of key molecules for the effect of IVIG and development of new treatments that target defined molecules.

Our new model mimics human PM and provides a useful tool to investigate its pathologic mechanisms. It holds promise for identification of specific targets that will lead to the development of new therapeutic approaches in the treatment of PM, and will also be useful for confirming the efficacy of these treatments.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank H. Karasuyama for providing the Ig μ -null mutant mice, K. Sekikawa for the TNF α -null mutant mice, M. Azuma for the hybridoma-producing anti-CD8 (53.67.2) mAb, A. Suwa and T. Mimori for performing the detection of autoantibodies, and E. Hirasawa for her critical advice.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Dr. Kohsaka had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Study design. Sugihara, Kohsaka.

Acquisition of data. Sugihara, Sekine, Nakae, Kohyama.

Analysis and interpretation of data. Sugihara, Harigai, Iwakura, Matsumoto, Miyasaka, Kohsaka.

Manuscript preparation. Sugihara, Kohsaka.

Statistical analysis. Sugihara, Kohsaka.

REFERENCES

- Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003;362:971-82.
- Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. I. Quantitation of subsets according to diagnosis and sites of accumulation and demonstration and counts of muscle fibers invaded by T cells. *Ann Neurol* 1984;16:193-208.
- Engel AG, Arahata K. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. II. Phenotypes of autoinvasive cells in polymyositis and inclusion body myositis. *Ann Neurol* 1984;16:209-15.
- Goebels N, Michaelis D, Engelhardt M, Huber S, Bender A, Pongratz D, et al. Differential expression of perforin in muscle-infiltrating T cells in polymyositis and dermatomyositis. *J Clin Invest* 1996;97:2905-10.
- Emslie-Smith AM, Arahata K, Engel AG. Major histocompatibility complex class I antigen expression, immunolocalization of interferon subtypes, and T cell-mediated cytotoxicity in myopathies. *Hum Pathol* 1989;20:224-31.
- Bender A, Ernst N, Iglesias A, Dornmair K, Wekerle H, Hohlfeld R. T cell receptor repertoire in polymyositis: clonal expansion of autoaggressive CD8+ T cells. *J Exp Med* 1995;181:1863-8.
- Nishio J, Suzuki M, Miyasaka N, Kohsaka H. Clonal biases of peripheral CD8 T cell repertoire directly reflect local inflammation in polymyositis. *J Immunol* 2001;167:4051-8.
- Lipsky PE, van der Heijde DM, St.Clair EW, Furst DE, Breedveld FC, Kalden JR, et al, for the Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2000;343:1594-602.
- Williams RO, Feldmann M, Maini RN. Anti-tumor necrosis factor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:9784-8.
- Takagi N, Mihara M, Moriya Y, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T, et al. Blockage of interleukin-6 receptor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41:2117-21.
- Taniguchi K, Kohsaka H, Inoue N, Terada Y, Ito H, Hirokawa K, et al. Induction of the p16INK4a senescence gene as a new therapeutic strategy for the treatment of rheumatoid arthritis. *Nat Med* 1999;7:760-7.
- Rosenberg NL, Ringel SP, Kotzin BL. Experimental autoimmune myositis in SJL/J mice. *Clin Exp Immunol* 1987;68:117-29.
- Matsubara S, Shima T, Takamori M. Experimental allergic myositis in SJL/J mice immunized with rabbit myosin B fraction: immunohistochemical analysis and transfer. *Acta Neuropathol (Berl)* 1993;85:138-44.
- Bittner RE, Anderson LV, Burkhardt E, Bashir R, Vafiadaki E, Ivanova S, et al. Dysferlin deletion in SJL mice (SJL-Dysf) defines a natural model for limb girdle muscular dystrophy 2B. *Nat Genet* 1999;23:141-2.
- Rosenberg NL, Kotzin BL. Aberrant expression of class II MHC antigens by skeletal muscle endothelial cells in experimental autoimmune myositis. *J Immunol* 1989;142:4289-94.
- Weber FE, Vaughan KT, Reinach FC, Fischman DA. Complete sequence of human fast-type and slow-type muscle myosin-binding-protein C (MyBP-C): differential expression, conserved domain structure and chromosome assignment. *Eur J Biochem* 1993;216:661-9.
- Gilbert R, Cohen JA, Pardo S, Basu A, Fischman DA. Identification of the A-band localization domain of myosin binding proteins C and H (MyBP-C, MyBP-H) in skeletal muscle. *J Cell Sci* 1999;112:69-79.
- Kojima T, Tanuma N, Aikawa Y, Shin T, Sasaki A, Matsumoto Y. Myosin-induced autoimmune polymyositis in the rat. *J Neurol Sci* 1997;151:141-8.
- Kohyama K, Matsumoto Y. C protein in the skeletal muscle induces severe autoimmune polymyositis in Lewis rats. *J Neuroimmunol* 1999;98:130-5.
- Horai R, Asano M, Sudo K, Kanuka H, Suzuki M, Nishihara M, et al. Production of mice deficient in genes for interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-1 α/β , and IL-1 receptor antagonist shows that IL-1 β is crucial in turpentine-induced fever development and glucocorticoid secretion. *J Exp Med* 1998;187:1463-75.
- Kubo S, Nakayama T, Matsuoka K, Yonekawa H, Karasuyama H. Long term maintenance of IgE-mediated memory in mast cells in the absence of detectable serum IgE. *J Immunol* 2003;170:775-80.
- Taniguchi T, Takata M, Ikeda A, Momotani E, Sekikawa K. Failure of germinal center formation and impairment of response to endotoxin in tumor necrosis factor α -deficient mice. *Lab Invest* 1997;77:647-58.
- Moll J, Barzaghi P, Lin S, Bezakova G, Lochmuller H, Engvall E, et al. An agrin minigene rescues dystrophic symptoms in a mouse model for congenital muscular dystrophy. *Nature* 2001;413:302-7.
- Mogi S, Sakurai J, Kohsaka T, Enomoto S, Yagita H, Okumura K, et al. Tumour rejection by gene transfer of 4-1BB ligand into a CD8+ murine squamous cell carcinoma and the requirements of co-stimulatory molecules on tumour and host cells. *Immunology* 2000;101:541-7.
- Lundberg I, Ulfgren AK, Nyberg P, Andersson U, Klareskog L. Cytokine production in muscle tissue of patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 1997;40:865-74.
- Kuru S, Inukai A, Liang Y, Doyu M, Takano A, Sobue G. Tumor necrosis factor- α expression in muscles of polymyositis and dermatomyositis. *Acta Neuropathol (Berl)* 2000;99:585-8.
- Cherin P, Pelletier S, Teixeira A, Laforet P, Genereau T, Simon A, et al. Results and long-term followup of intravenous immunoglobulin infusions in chronic, refractory polymyositis: an open study with thirty-five adult patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:467-74.
- Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C, et al. A controlled trial of high-dose intravenous immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993;329:1993-2000.
- Cherin P, Herson S, Wechsler B, Piette JC, Bletry O, Coutellier A, et al. Efficacy of intravenous gammaglobulin therapy in chronic refractory polymyositis and dermatomyositis: an open study with 20 adult patients. *Am J Med* 1991;91:162-8.
- Sun D, Whitaker JN, Huang Z, Liu D, Coleclough C, Wekerle H, et al. Myelin antigen-specific CD8+ T cells are encephalitogenic and produce severe disease in C57BL/6 mice. *J Immunol* 2001;166:7579-87.
- Edith M, Janssen EE, Lemmens TW, Urs C, Matthias GH, Stephen PS. CD4+ T cells are required for secondary expansion and memory in CD8+ T lymphocytes. *Nature* 2003;421:852-6.
- Matsubara S, Kitaguchi T, Kawata A, Miyamoto K, Yagi H, Hirai S. Experimental allergic myositis in SJL/J mouse: reappraisal of immune reaction based on changes after single immunization. *J Neuroimmunol* 2001;119:223-30.
- Eriksson U, Ricci R, Hunziker L, Kurrer MO, Oudit GY, Watts TH, et al. Dendritic cell-induced autoimmune heart failure requires cooperation between adaptive and innate immunity. *Nat Med* 2003;9:1484-90.
- Marie I, Hachulla E, Cherin P, Dominique S, Hatron PY, Hellot MF, et al. Interstitial lung disease in polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2002;47:614-22.
- Lundberg I, Kratz AK, Alexanderson H, Patarrayo M. Decreased expression of interleukin-1 α , interleukin-1 β , and cell adhesion

- molecules in muscle tissue following corticosteroid treatment in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2000;43:336-48.
36. Nakae S, Asano M, Horai R, Sakaguchi N, Iwakura Y. IL-1 enhances T cell-dependent antibody production through induction of CD40 ligand and OX40 on T cells. *J Immunol* 2001;167:90-7.
 37. Saijo S, Asano M, Horai R, Yamamoto H, Iwakura Y. Suppression of autoimmune arthritis in interleukin-1-deficient mice in which T cell activation is impaired due to low levels of CD40 ligand and OX40 expression on T cells. *Arthritis Rheum* 2002;46:533-44.
 38. Eriksson U, Kurrer MO, Sonderegger I, Izzi G, Tafuri A, Hunziker L, et al. Activation of dendritic cells through the interleukin 1 receptor 1 is critical for the induction of autoimmune myocarditis. *J Exp Med* 2003;197:323-31.
 39. Nagaraju K, Raben N, Merritt G, Loeffler L, Kirk K, Plotz P. A variety of cytokines and immunologically relevant surface molecules are expressed by normal human skeletal muscle cells under proinflammatory stimuli. *Clin Exp Immunol* 1998;113:407-14.
 40. Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J* 1992;6:2591-9.
 41. Wada H, Saito K, Kanda T, Kobayashi I, Fujii H, Fujigaki S, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) plays a protective role in acute viral myocarditis in mice: a study using mice lacking TNF- α . *Circulation* 2001;103:743-9.
 42. Anandacoomarasamy A, Howe G, Manolios N. Advanced refractory polymyositis responding to infliximab. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:562-3.
 43. Campbell IK, O'Donnell K, Lawlor KE, Wicks IP. Severe inflammatory arthritis and lymphadenopathy in the absence of TNF. *J Clin Invest* 2001;107:1519-27.
 44. Sapir T, Blank M, Shoenfeld Y. Immunomodulatory effects of intravenous immunoglobulins as a treatment for autoimmune diseases, cancer, and recurrent pregnancy loss. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1051:743-78.
 45. Wada J, Shintani N, Kikutani K, Nakae T, Yamauchi T, Takechi K. Intravenous immunoglobulin prevents experimental autoimmune myositis in SJL mice by reducing anti-myosin antibody and by blocking complement deposition. *Clin Exp Immunol* 2001;124:282-9.
 46. De Grandmont MJ, Racine C, Roy A, Lemieux R, Neron S. Intravenous immunoglobulins induce the in vitro differentiation of human B lymphocytes and the secretion of IgG. *Blood* 2003;101:3065-73.
 47. Basta M, Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest* 1994;94:1729-35.
 48. Kaveri S, Vassilev T, Hurez V, Lengagne R, Lefranc C, Cot S, et al. Antibodies to a conserved region of HLA class I molecules, capable of modulating CD8 T cell-mediated function, are present in pooled normal immunoglobulin for therapeutic use. *J Clin Invest* 1996;97:865-9.
 49. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science* 2001;291:484-6.

治療戦略

バリエーション①: 悪性関節リウマチ (血管炎合併)

■ ポイント

- ◎ 血管炎をはじめとする関節外症状を認め、難治性もしくは重篤な臨床病態を伴う関節リウマチ (RA) を悪性関節リウマチ (MRA) と定義する。
- ◎ 全身動脈型 (Bevans 型) と末梢動脈型 (Bywaters 型) に分けられる。
- ◎ 血管閉塞に起因する組織障害を管理することが治療上重要である。

■ 定義, 概念

1954年にBevansが激しい関節外症状 (胸膜炎, 心外膜炎, 肺の肉芽腫病変, 腎病変など) と全身の壊死性血管炎を認め、急激に死に至った2例のRA患者をMRAとして報告した (Bevans M: *Am J Med* 16: 197-211, 1954)。その後、欧米では、MRAという用語はほとんど使われなくなり、こうした症例はrheumatoid vasculitisとして扱われている。本邦では1973年より厚生省 (現厚生労働省) 研究班により、調査研究が進められ、「血管炎をはじめとする関節外症状を認め、難治性もしくは重篤な臨床病態を伴うRA」と定義されている。

■ 病因, 疫学

RAと同様に本症の病因は明らかでない。RAの家族歴が12%にみられ、RAよりも強くHLA-DR4との相関を認めることより、発症に遺伝的素因の関与が推定される。MRAでは、リウマトイド因子の陽性率が高く、免疫複合体が高値で、低補体血症を示すことが指摘され、免疫異常が強く病因と関与すると考えられてきた。免疫グロブリンクラス別リウマトイド因子では、IgGクラスリウマトイド因子が高率で、血管炎への関与が示唆されている。

本邦でのMRAの頻度は、RAの0.6~0.8%とされ、1993年の全国疫学調査による推定患者数は、4200人である。男女比は1:2とRAに比して男性に多く、年齢は50~60歳とRAに比して高齢である。MRAは罹病期間の長いRAに多い。

■ 症 状

MRAの臨床病型は、全身動脈型 (Bevans型)、末梢動脈型 (Bywaters型) と肺臓炎型に分類される (表1)。全身動脈型 (Bevans型) は、発熱、体重減少、浮腫、皮下結節、紫斑、筋痛、筋力低下、胸膜炎、心膜炎、多発性単神経炎、消化管出血、上強膜炎など、全身の諸臓器を

〈表1〉 MRAの臨床病理学的分類

	病理学的特徴	臨床的特徴	予 後	
血管炎型	A. 全身動脈型	内臓を系統的に障害	胸膜炎, 心膜炎 肺臓炎, 心筋炎	不 良
	B. 末梢動脈型	四肢末梢および皮膚を障害	多発性神経炎, 皮膚潰瘍 指壊疽, 上強膜炎 皮下結節, 皮膚出血	良 好
非血管炎型	C. 肺臓炎型	肺臓を障害	肺臓炎, 間質性肺炎	不 良
	D. 全身性感染症 その他			不 良

(京極方久他: リウマチ 15: 483-487, 1975より改変)

〈表2〉 RAとMRAの臨床像の比較

症 状	RA (n=227)	MRA (n=169)	有意差 (P)
女性頻度	78.9	71.6	
definite 以上 RA	99.6	99.4	
滲出性胸膜炎	2.8	28.7	P<0.01
心嚢炎	0.5	15.3	P<0.01
心筋炎	0	3.3	
肺臓炎, 間質性肺炎, 肺線維症	14.2	48.2	P<0.01
筋萎縮, 筋力低下	18.6	35.2	P<0.05
臓器梗塞 (腸, 心筋など)	0.9	15.0	P<0.01
多発性単神経炎	0.9	37.3	P<0.01
皮膚梗塞	0	18.5	P<0.01
皮膚潰瘍	0.5	33.7	P<0.01
指趾壊疽	0	15.1	P<0.01
皮下結節	17.0	67.9	P<0.01
紫斑, 出血	5.5	34.5	P<0.01
上強膜炎	0.9	26.5	P<0.01
虹彩炎	0	7.1	P<0.025
発熱, 体重減少, 下腿浮腫	26.6	73.3	P<0.01

(厚生省 (現厚生労働省) 系統的脈管障害調査研究班 1986年度研究報告書, p33より)

系統的に急速に障害し、予後不良である。組織学的には、結節性多発動脈炎型血管炎 (Kussmaul-Maier 型血管炎) を示す。末梢動脈型 (Bywaters 型) は、皮膚梗塞、皮膚潰瘍、指尖部壊疽、末梢神経炎などを認める。肺臓炎型は、緩徐進行性の間質性肺炎および肺線維症を特徴とする (表2)。薬剤性肺障害を鑑別する必要がある。

■ 検 査

RAと同様に赤沈亢進, CRP上昇, 高ガンマグロブリン血症を認める。白血球数と血小板数は増加し, 貧血がみられる。RAに比してリウマトイド因子の陽性率, 力価とも高く, IgM型に加え, IgG型リウマトイド因子も認める。免疫複合体は高値で, 血清補体価は低下する。ラクトフェリンなど非特異的 ANCAと本症が関連するとの報告もある。

■ 診断および鑑別診断

厚生省 (現厚生労働省) 特定疾患調査研究班により,

MRAの改訂診断基準が示されている (表3)。

■ 薬物治療の考え方

MRA治療の基本方針は, ①DMARDsを中心としたRAに対する治療は継続する, ②関節機能保全の進行に留意する, ③MRAが寛解するまで入院治療を原則とし, その上で血管炎などによる関節外症状の治療を行う (松岡康夫: 難治性血管炎の診療マニュアル, 厚生省 (現厚生労働省) 難治性血管炎に関する調査研究班, 2002, p35-40)。治療反応性の評価は, 臨床症状や炎症反応の改善, 血清免疫学的異常所見 (リウマトイド因子高値, 免疫複合体上昇, 低補体血症) の改善などに基づいて行う。

1) ステロイド

全身動脈型の諸症状に対しては, プレドニゾロン (PSL) 40~80mg/日, 末梢動脈型では, PSL 20~40mg/日で治療を開始する。血管炎による重篤な臓器症状や進行性間質性肺炎に対しては, ステロイドパルス療法も考慮する。

〈表3〉悪性関節リウマチ (MRA) の改訂診断基準

既存の関節リウマチ (RA) に血管炎をはじめとする関節外症状を認め、難治性もしくは重篤な臨床病態を伴う場合、これを悪性関節リウマチ (malignant rheumatoid arthritis : MRA) と定義し、以下の基準により診断する

A. 臨床症状、検査所見

1. 多発性神経炎
知覚障害、運動障害いずれを伴ってもよい
2. 皮膚潰瘍または梗塞または指趾壊疽
感染や外傷によるものは含まない
3. 皮下結節
骨突起部、伸側表面もしくは関節近傍にみられる皮下結節
4. 上強膜炎または虹彩炎
眼科的に確認され、他の原因によるものは含まない
5. 滲出性胸膜炎または心嚢炎
感染症など、他の原因によるものは含まない。癒着のみの所見は陽性にとらない
6. 心筋炎
臨床所見、炎症反応、筋原性酵素、心電図、心エコーなどにより診断されたものを陽性とする
7. 間質性肺炎または肺線維症
理学的所見、胸部X線、肺機能検査により確認されたものとし、病変の広がりには問わない
8. 臓器梗塞
血管炎による虚血、壊死に起因した腸管、心筋、肺などの臓器梗塞
9. リウマトイド因子高値
2回以上の検査で、RAHAテスト2560倍以上 (RF定量テストにて960IU/mL以上) の高値を示すこと
10. 血清低補体価または血中免疫複合体陽性
2回以上の検査で、C3、C4などの血清補体成分の低下またはCH50による補体活性化の低下をみる。または2回以上の検査で血中免疫複合体陽性 (C1q結合能を基準とする) をみる (ただし、医療保険が適用されていないので検査のできる施設に限る)

B. 組織所見

皮膚、筋、神経、その他の臓器の生検により、小ないし中動脈に壊死性血管炎、肉芽腫性血管炎ないしは閉塞性内膜炎を認めること
判定

1987年の米国リウマチ学会の関節リウマチの診断基準を満たし、上記に挙げる項目のなかで、(1) Aの3項目以上満たすもの、または、(2) Aの1項目以上とBの項目があるもの、をMRAと診断する

鑑別疾患: 感染症、アミロイドーシス、Felty症候群、全身性エリテマトーデス、多発性筋炎、MCTDなど

(厚生省 (現厚生労働省) 系統的脈管障害調査研究班 1987年度研究報告書. P189-191より)

2) 免疫抑制薬

ステロイド無効例、ステロイド有効だが減量・離脱が困難な例、副作用でステロイド継続困難な例などでは、免疫抑制薬の適応となる。アザチオプリン、シクロホスファミド、またはミゾリピン内服、シクロホスファミド間欠静注療法を行う。間質性肺炎を認めない例ではメトトレキサート間欠療法などを行う。

RAに伴う単神経炎にエタネルセプトが有効であったという報告もあるが、MRAにおける生物学的製剤の有用性は今後検討を要する。

3) 抗凝固療法、抗血小板薬、血管拡張薬

皮膚梗塞、潰瘍、臓器虚血・梗塞に対して、ワルファリンカリウムなどの抗凝固薬、アスピリンなどの抗血小板薬、ベラプロストナトリウムなどの血管拡張薬を併用する。

4) 血漿交換療法

ステロイドをはじめとする免疫抑制療法で十分な効果が認められず、免疫複合体高値、クリオグロブリン血症、過粘稠度症候群などの病態への関与が疑われる場合には、IgGリウマトイド因子や免疫複合体などの液性因子を除去する目的で、血漿交換療法を行う。

◎ 処方例：臓器虚血・梗塞の場合

- 1) プレドニゾロン (プレドニン5mg) 8～12錠/
日 1日3～4回 (毎食後, 就寝前)
- 2) ベラプロストナトリウム (プロサイリン20 μ g)
6錠/日 1日3回 (毎食後)
- 3) アスピリン (バイアスピリン100mg) 1錠/日 1日
1回 (朝食後)

■ 副作用と対策

ステロイド大量療法や免疫抑制療法による易感染状態により、カリニ肺炎やサイトメガロウイルス (CMV) 感染症などを併発することがあり、注意を要する。ST合剤によるカリニ肺炎の一次予防を行い、 β -D-グルカン、CMVアンチゲネミアのモニタリングにより、早期発見につとめる。

コントロールが  うまくいかないとき

原因 ①間質性肺炎, ②皮膚潰瘍

対応 ①メトトレキサート, プシラミン, 金剤などにより間質性肺炎がみられることがあり, これらの薬剤を中止する。DMARDsは, サラゾスルファピリジン, ミゾリビンへ変更する。

②難治性皮膚潰瘍では, 経口血管拡張薬から, リボPGE₁または抗トロンビン薬の点滴静注へ変更する。

治療戦略

バリエーション②: 回帰性リウマチと思われるケース

■ポイント

- ◎ 再発性の急性関節炎と関節周囲炎。
- ◎ 発作は数日から1週間程度で消失し、発作と発作の間には無症状の期間が数日から数カ月ある。
- ◎ 関節リウマチ (RA) への移行が30～40%でみられる。
- ◎ 注射金剤の効果が報告されている。

■定義, 概念

1944年にHenchおよびRosenbergが、再発性の急性関節炎と関節周囲炎で、発作は数日から1週間程度で消失し、発作と発作の間には無症状の期間(間欠期)が数日から数カ月ある稀な疾患として、回帰性リウマチ (palindromic rheumatism) を記載した (*Arch Intern Med* 73: 292-321, 1944)。RAへの移行が30～40%でみられる。

■病因, 疫学

回帰性リウマチからRAへの移行がみられることを除き、本症候群の病因や成因はほとんど明らかでない。男

女比はほぼ同数で、年齢は20～60歳とされる。回帰性リウマチの有病率はRAのほぼ1/10とされる。

■症状

発作はどの関節にも起こり得るが、手関節、手指関節、膝関節、肩関節、足関節が侵されることが多い。脊椎や顎関節は稀である(表1)。発作は、突然に1～2関節に起こり、数時間で疼痛は最大となる。それとともに、罹患関節の表面または周囲に、著明な発赤、熱感、腫脹を認める。発作は、非常に短期間で(多くは48時間以内)、1週間以内に消失する。時に数時間で消失することもある。発作の頻度は、毎日から毎月まで様々である。発熱を伴う場合もある。また、発作とともに一過性に皮下結節がみられることもある。回帰性リウマチの長期経過は不明な点も多いが、自然寛解は10%以下で、多くの例では破壊性関節炎を伴わず周期的に発作を認める。30～40%の患者では、発作の程度は軽くなるが回数が頻繁になり、複数関節を同時に罹患しRAへ移行する。

〈表1〉回帰性リウマチの発作時の関節障害の分布

	患者 (%)	
	平均	範囲
MPおよびPIP	91	74～100
手首	78	54～82
膝	64	41～94
肩	65	33～75
足首	50	10～67
足	43	15～73
肘	38	13～60
腰	17	0～40
顎関節	8	0～28
脊椎	4	0～11
胸鎖関節	2	0～6
傍関節部位	27	20～29

(Guerne PA, et al: *Am J Med* 93: 451-460, 1992より改変)

■検査

発作時には、赤沈亢進や炎症反応上昇を認めるが、間欠期にはこれらの異常を認めない。リウマトイド因子の陽性頻度は30～60%とされ、陽性患者では発作が重症でRAへ移行しやすいとの報告やRAへの移行期にリウマトイド因子が陽性化するとの報告もある (Hannonen P: *Scand J Rheumatol* 16: 413-420, 1987)。リウマトイド因子以外の自己抗体では、抗CCP抗体と抗ケラチン抗体が調べられている。抗CCP抗体の陽性率および抗体価はRAと同様だが、抗ケラチン抗体の頻度はRAに比して低い。さらに、RAと同様に、リウマトイド因子と抗CCP抗体には、相関がみられた。こうした成績から、回帰性リ

〈表2〉再発性または反復性の関節炎を認める疾患

◎ 結晶性関節炎	◎ Whipple病
◎ 反応性関節炎	◎ 全身性自己免疫疾患
◎ 炎症性腸疾患に伴う関節炎	家族性地中海熱
◎ 回帰性リウマチ	TRAPS症候群
◎ ベーチェット病	高IgD症候群
◎ サルコイドーシス	◎ 高脂血症
◎ 再発性多発軟骨炎	◎ 間欠性関節水腫

ウマチをRAの亜型と推定する報告もある (Salvador G: *Rheumatology* 42: 972-975, 2003)。

回帰性リウマチは家族性に発症することがあるが、HLA-DR4およびDR1との強い相関は認められていない。

関節液検査では、非特異的、亜急性の炎症反応を認める。X線検査では、発作中に軟部組織の腫脹を認める場合は、正常である。滑膜生検では、微小血管傷害を認める。

■ 診断および鑑別診断

診断は、再発性の急性関節炎と関節周囲炎という特徴的な臨床所見に基づいて行われる。再発性または反復性の関節炎を認める疾患を鑑別する必要がある (表2)。

■ 薬物治療の考え方

NSAIDsにより症状の軽減はみられるものの、十分な効果が得られないことも多い。ステロイドやコルヒチンを定期的に服用しても、発作を予防することは困難である。DMARDsの効果は明らかでないが、注射剤で最も一定した効果が報告されている (Mattingly S: *Ann Rheum Dis* 25: 307-317, 1966)。ペニシラミンおよびサラゾスルファピリジンも試みられている。欧米ではクロロキンを試されているが、本邦では承認されていない。メトトレキサートおよびレフルノミドの使用報告はこれまでない。

◇ 処方例 ◇

◎ 処方例①: 発作時および間欠時 (併用)

- 1) ジクロフェナク (ボルタレン25mg) 3錠/日 1日 3回 (毎食後)
- 2) 金チオリンゴ酸ナトリウム (シオゾール注25mg) 1A/日 1月1回筋注

◎ 処方例②: 発作時および間欠時 (併用)

- 1) ジクロフェナク (ボルタレン25mg) 3錠/日 1日 3回 (毎食後)
 - 2) プシラミン (リマチル 100mg*) 3錠/日 1日 3回 (毎食後)
- * 50mg錠もあるので注意 (☞§19, 58頁 表1)

◎ 処方例③: 発作時および間欠時 (併用)

- 1) ジクロフェナク (ボルタレン25mg) 3錠/日 1日 3回 (毎食後)
 - 2) サラゾスルファピリジン (アザルフィジンEN 500mg*) 2錠/日 1日2回 (朝・夕食後)
- * 250mg錠もあるので注意 (☞§19, 58頁 表1)

◎ 処方例④: 関節炎および関節周囲炎が強い場合 (いずれかを用いる。併用可)

- 1) ファルネシル酸プレドニゾロン (ファルネラートゲル1.4%) 1日数回外用
- 2) フェルピナク (セルタッチパップ) 1日2回患部貼付

コントロールが うまくいかないとき

- 原因** ①発作の頻度が多い。②発作の程度は軽くなるが回数が頻繁になる。
- 対応** ①激しい運動や感染が発作の誘因となることがあり、生活指導を行う。
②RAへの移行を疑い、RAに準じたDMARDs療法を行う。

治療戦略

バリエーション③: Felty 症候群

■ ポイント

- ◎ 関節リウマチ (RA) と同様の関節症状に脾腫と白血球減少を伴うもの。
- ◎ 関節炎は高度の骨破壊を伴うことが多い。
- ◎ 関節外症状として、リウマトイド結節、リンパ節腫脹、下腿潰瘍、末梢神経障害などを合併する。
- ◎ 関節炎および関節外症状を抑え、白血球減少による感染症を管理することが治療上重要である。

■ 定義, 概念

1924年にFeltyがRA患者に脾腫と白血球減少を伴う5例を報告した (Felty AR: *Bull Johns Hopkins Hosp* 35: 16-20, 1924)。この三徴候を伴うものはFelty症候群と呼ばれ、RAの一亜型と考えられる。

■ 病因, 疫学

本症候群の病因は明らかでない。RAの家族歴をもつことが多く、HLA-DR4との相関が高いことより、発症に遺伝的素因の関与が推定される。白血球減少症は好中球減少による。その機序として以前は脾機能亢進が考えら

れていたが、現在では顆粒球特異的抗核抗体などの自己抗体や免疫複合体が好中球寿命を短縮する可能性や血漿中の液性因子や細胞性因子が骨髓増殖能を抑制する可能性が指摘されている。

欧米に比べて本邦での本症候群の発症頻度は少なく、RAの約1%とされる。男女比は1:2~4と女性に多く、年齢は50~70歳とRAに比して高齢である。

■ 症 状

RAと同様の関節症状に加えて、全身症状 (発熱, 全身倦怠感, 体重減少), 血管炎による症状 (胸膜炎, 肺線維症, 心膜炎, 末梢神経炎, 上強膜炎, 皮膚潰瘍), 脾腫などがみられる。RAに比べ皮下結節, 肝腫大, シェーグレン症候群の合併頻度も高い (表1)。好中球減少による感染症を繰り返す。

■ 検 査

1) 血球障害

白血球数減少は、好中球減少によるものであり、好中球数は2000/ μ L未満と定義される。好中球減少の程度は、経過中変動し、自然寛解することもある。貧血は、RAと同様の慢性炎症パターンを示すが、溶血性貧血を示すこともある。しばしば血小板減少を合併する。

2) 免疫異常

RAに比してリウマトイド因子の陽性頻度は高い (95~100%)。IgM型RFに加え、IgG型およびIgA型リウマトイド因子も認める。抗核抗体の陽性率は高い (47~100%)。抗ヒストン抗体も高率で (68~83%)、抗ssDNA抗体がしばしば陽性となるが、抗dsDNA抗体は稀である。免疫複合体の陽性率が高く、補体は低値を示す。顆粒球特異的抗核抗体や抗白血球細胞膜抗体が陽性

〈表1〉 Felty 症候群の関節外症状

リウマトイド結節	76%
体重減少	68%
シェーグレン症候群	56%
リンパ節腫脹	34%
下腿潰瘍	25%
胸膜炎	19%
皮膚色素沈着	17%
神経障害	17%
上強膜炎	8%

(Pinals RS, et al: *Textbook of Rheumatology*. 5th ed, 1997, p951-954より)

〔表2〕 Felty 症候群と RA を合併した LGL 症候群の臨床的特徴

	Felty 症候群	RA 合併 LGL 症候群
びらん性関節炎	多い	稀
関節外症状	多い	稀
関節炎と好中球減少の発症	しばしば同時	先行
脾腫	多い	多い
易感染性	多い	稀
白血球数	減少	正常
リンパ球増加	なし	あり
CD4 : CD8 比	正常	低下
TCR 遺伝子異常	なし	あり
白血病への進展	稀	3~14%
リウマトイド因子陽性	多い	多い
抗核抗体陽性	多い	多い
抗顆粒球抗体	多い	多い
脾摘に対する反応性	良好	再燃あり

(Balint GP, et al : Best Practice & Research Clinical Rheumatology 18 : 631-645, 2004 より改変)

となるとの報告もある。蛍光抗体法で抗好中球細胞質抗体が高率に陽性パターンを示し、その対応抗原はラクトフェリンGなど非特異的ANCAである。

3) その他

RAと同様に赤沈亢進, CRP上昇, 高ガンマグロブリン血症を認める。

■ 診断および鑑別診断

長期に(通常は10年以上)RAに罹患した患者で, 原因不明の持続的な好中球減少, 脾腫を認めた場合に本症候群と診断する。悪性関節リウマチ, RAと全身性エリテマトーデスの重複例, RAとシェーグレン症候群の重複例, RAに肝硬変や薬剤性好中球減少を合併した場合, 重症感染症を合併した場合などを鑑別する必要がある。

末梢血中に巨大顆粒リンパ球(LGL)の出現を認め, 好中球減少と脾腫を特徴とするLGL症候群と呼ばれる疾患では, 高率に(20~30%)RAを合併することから, Felty症候群との鑑別が問題となる(表2)。

■ 薬物治療の考え方

関節炎および関節外症状を抑え, 白血球減少による感

染症を管理することが重要である。

1) 関節炎および関節外症状に対する治療

RAの治療に準じ治療する。すなわち, NSAIDsを投与し, DMARDsを併用する。疾患活動性の低下により白血球数の回復も期待される。一方で, NSAIDsおよびDMARDsによる好中球減少の副作用に注意を要する。

DMARDsとして, 金製剤, サラゾスルファピリジン(アザルフィジンEN)またはブシラミン(リマチル)を選択する。血管炎症状に対してはステロイドを投与する。

2) 白血球減少に対する治療

有効な治療法は確立されていない。ステロイド, 炭酸リチウム, ステロイドパルス療法, 免疫抑制薬, G-CSF, ガンマグロブリン大量療法, 血漿交換療法の有用性が報告されている。薬物治療が無効で感染症を繰り返す例では脾摘も試みられ(Coon WW, et al : Am J Surg 149 : 272-275, 1985), 80%の例で白血球が回復したとの報告がある一方で, こうした効果は一時的であるとの報告もある。

3) 感染症の治療

好中球数1000/ μ L以下では感染症発症のリスクは高い。抗菌薬により感染症をコントロールする。

◇処方例◇

◎処方例①：関節炎の場合（併用）

- 1) ロキソプロフェン（ロキソニン60mg） 3錠/日
1日3回（毎食後）
 - 2) サラゾスルファピリジン（アザルフィジンEN
500mg*） 2錠/日 1日2回（朝・夕食後）
- * 250mg錠もあるので注意（⇒§19, 58頁 表1）

◎処方例②：血管炎の場合

- ・プレドニゾロン（プレドニン5mg） 6錠/日 1日
3回（朝・夕食後）

■予 後

感染症の合併頻度が高く、予後不良である。

コントロールが  うまくいかないとき

原因 ①DMARDsが無効，②易感染性

- 対応 ①関節炎および白血球減少にメトトレキサートの有効性を示す成績が欧米で示されている。骨髄抑制に注意して単独で，またはステロイドとの併用で慎重に投与する。
- ②好中球数減少，好中球機能低下など原病によるもののほか，治療に用いたステロイド，免疫抑制薬の影響による場合もあり，減量を考慮する。

検査 1

免疫血清学的検査

○免疫血清学的検査は、診断、病態の把握、治療効果判定、予後推定に有用となる。

① 血清蛋白分画，膠質反応

血清蛋白は、電気泳動検査で、アルブミン、 α_1 、 α_2 、 β 、 γ の5つの分画に分かれる。A/G比の低下、 γ グロブリンの増加は、リウマチ性疾患・膠原病を疑わせる。関節リウマチ(RA)、Sjögren症候群(SjS)、全身性エリテマトーデス(SLE)などのほか、慢性炎症性疾患、肝疾患でも多クローン性に γ グロブリンは増加する。

α_2 から γ 分画に異常なピーク(M蛋白)を認める場合には、免疫電気泳動検査を行う。

膠質反応検査であるチモール混濁試験(TTT)および硫酸亜鉛混濁試験(ZTT)の高値は、それぞれIgM高値、IgG高値を示す。

② 免疫グロブリン，クリオグロブリン

免疫グロブリンは、IgG、IgA、IgM、IgDおよびIgEの5つのサブクラスに分けられる。リウマチ性疾患・膠原病では多クローン性のIgG増加を示す。一方、原発性および二次性免疫不全症、ネフローゼ症候群、蛋白漏出性胃腸症、ステロイド薬服用時には低下する。

低温で沈降し、37℃で再溶解する免疫グロブリンがクリオグロブリンであり、寒冷時にさまざまな症状を起こす。クリオグロブリン血症は、本態性と膠原病など基礎疾患を持つ二次性に大別される。

③ 補 体

C3とC4を定量するか、CH50を測定す

る。

a. 補体低下

SLE活動期、悪性関節リウマチ(MRA)、クリオグロブリン血症、肝硬変。

b. 補体上昇

RA、リウマチ熱、結節性多発性動脈炎(PN)、Behçet病、サルコイドーシス。

④ 免疫複合体

抗C1q抗体法、C1q法、抗C3d抗体法などの測定法がある。免疫複合体測定はII型アレルギー(免疫複合体病)の診断、疾患活動性の判定に有用である。RA、SLE、SjS、血管炎症候群、クリオグロブリン血症、Behçet病、サルコイドーシスなどで、関節炎、血管炎、腎炎、発熱、皮膚症状(紅斑、皮膚潰瘍)、血液障害(白血球減少、血小板減少)などと関連。

⑤ リウマトイド因子(RF)

ヒトIgGまたはウサギIgGに対する自己抗体で、主にIgM型のRFを定量法で測定。RAの80%前後で陽性となり、ACRのRA診断基準にも取り上げられ、診断的意義は高い。一方、RA以外の膠原病、慢性肝疾患、感染症、高齢者、健常人などでもときに陽性となる。RF価はRAの活動性と並行することが多く。MRAなどの関節外症状を有するRAで高値となる。

そのほかに下記のRF検出法がある。

- ① CARF：ガラクトース欠損IgGを抗原とし、全てのクラスのRFを検出。
- ② IgG-RF：RAでの陽性率は高くないが、MRAで陽性となる。

⑥ 抗核抗体 (ANA)

間接蛍光抗体法によるスクリーニングを行い、抗体価、染色型を参考にして、特異自己抗体を検索する (図 1)。

a. 抗体価

ANA 抗体価は、40 倍以上を陽性とすることが多い。この基準では健常人の 10～20% が陽性となるが、多くの例では特異自己抗体は検出されない。混合性結合組織病 (MCTD) において、全例が ANA 高力価陽性を示す。SLE, 強皮症 (SSc), 多発性筋炎・皮膚筋炎 (PM/DM), SjS においても ANA の陽性率、抗体価ともに高い例が多い。抗 SS-A 抗体, 抗 Jo-1 抗体では ANA 陰性の場合もある。ANA 抗体価は、経過中の変動は少ない。また、健常人、高齢者、高 γ グロブリン血症を伴う患者で陽性となることがある。

b. 染色型

ANA の染色型には、均質型、辺縁型、斑紋型、核小体型、離散斑紋型、PCNA 型などがあり、染色型から対応抗原が推定できる。また、ANA 陰性で細胞質染色を示す細胞質型のパターンも検出される。対応抗原から特異自己抗体が推定される。

c. ANA の臨床的意義

疾患に特異性の高い疾患標識自己抗体と臨床像と関連する症状特異自己抗体がある (表 1)。しかし、自己抗体が陰性でも疾患を否定できない。

1) LE 因子

LE 因子は、DNA-ヒストン複合体の不溶性成分に対する自己抗体である。白血球核に LE 因子と補体が結合して、ヘマトキシリン体となり、好中球が貪食したものが LE 細胞現象である。SLE で高頻度かつ高力価に認められ、活動期に高値。プロカインアミドやヒドララジンなどによる薬剤誘発性ループスでも高頻度に検出。

2) 抗 DNA 抗体

SLE に特異性が高く診断上有用。抗 dsDNA 抗体価は、疾患活動性とよく相関。

3) 抗 Sm 抗体

SLE に特異性が高い。本抗体陽性例では、ほぼ全例が抗 U1 RNP 抗体も陽性。

4) 抗 Scl-70 (DNA トポイソメラーゼ I) 抗体

SSc に特異性が高く、皮膚硬化が全身におよび食道病変、肺線維症などの内臓病変も高度なびまん型皮膚硬化を特徴とする。

5) 抗セントロメア抗体

CREST 症候群に特異性が高く、限局型皮膚硬化を伴う SSc と関連する。原発性胆汁性肝硬変, SjS, SLE においても陽性検出。

6) 抗 Jo-1 抗体

PM/DM に検出され、陽性例では筋炎に加え、間質性肺炎、多発関節炎を合併。

7) 抗 U1 RNP 抗体

SLE, SSc, PM/DM に広く検出されるが、特に膠原病の重複症状を示す例で高率。MCTD では高力価陽性となり、診断上必須項目である。

8) 抗 SS-B 抗体

SjS に疾患特異性が高い。眼・口腔乾燥症状を合併する SLE にも見出される。陽性例ではほぼ全例が抗 SS-A/Ro 抗体も陽性。

9) 抗 SS-A 抗体

SjS, SLE でしばしばみられ、最も高頻度である。乾燥症状と関連。

⑦ ANCA の臨床的意義

ANCA は好中球を抗原とした間接蛍光抗体法で、細胞質がびまん性顆粒状染色を示す c-ANCA (PR-3ANCA) と核の周辺が染色される p-ANCA (MPO-ANCA) に分類 (図 1)。

PR3-ANCA は、Wegener 肉芽腫症 (WG) に特異的、未治療や活動期 WG では高率に陽性。抗体価は疾患活動性を反映。

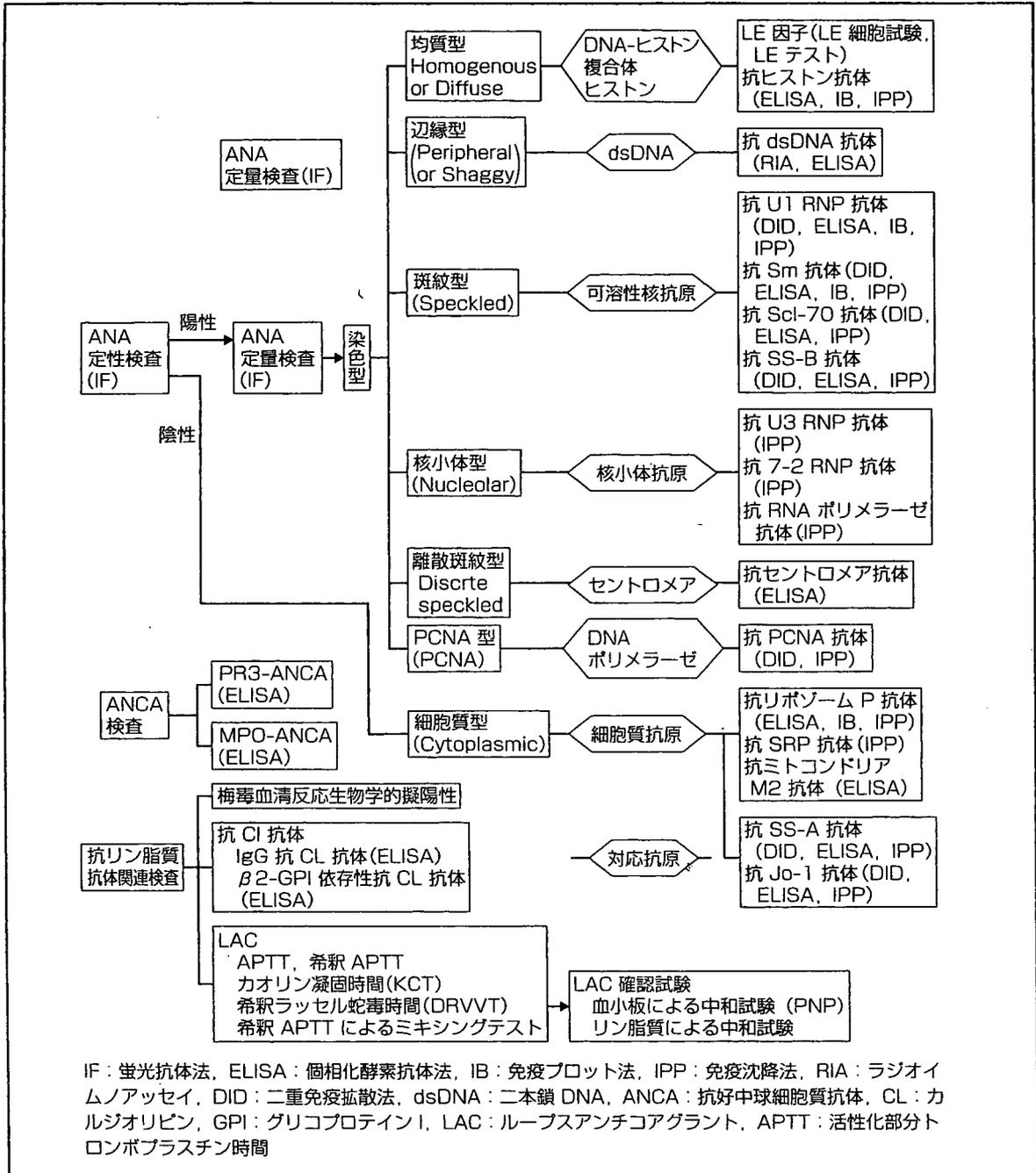


図 1 主な自己抗体の検査法

MPO-ANCA は、特発性半月体形成性糸球体腎炎、アレルギー性肉芽腫性血管炎 (Churg-Strauss 症候群)、顕微鏡的多発動脈炎で陽性。肺腎症候群 (間質性肺炎や肺胞出血、壊死性半月体形成性腎炎) で陽性率が高い。MPO-ANCA は、血管炎を伴う

SLE や SSC, RA などでも陽性となる。

⑧ 抗リン脂質抗体の臨床的意義

抗リン脂質抗体は、抗カルジオリピン抗体あるいはカルジオリピン以外のリン脂質、またはリン脂質結合蛋白を認識する自己抗

表 1 膠原病患者血清に見出される主な疾患標識自己抗体 (抗核抗体)

疾患	陽性頻度
全身性エリテマトーデス (SLE)	
LE 因子	50~60%
抗 dsDNA 抗体	40~70%
抗 Sm 抗体	15~30%
抗リボソーム P 抗体	10%
抗 PCNA 抗体	3~5%
全身性硬化症 (SSc)	
抗 Scl-70 (DNA トポイソメラーゼ I) 抗体	15~30%
抗セントロメア抗体	20~30%
抗 U3RNP 抗体	4~7%
抗 7-2 RNP 抗体	3~4%
抗 RNA ポリメラーゼ I-III 抗体	< 5%
多発性筋炎および皮膚筋炎 (PM/DM)	
抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体	
抗 Jo-1 抗体	20~30%
抗 PL-7 抗体	< 5%
抗 PL-12 抗体	< 5%
抗 OJ 抗体	< 5%
抗 EJ 抗体	< 5%
抗 KS 抗体	< 5%
抗 SRP 抗体	< 5%
抗 Mi-2 抗体	5~10%
overlap 症候群/混合性結合組織病 (MCTD)	
抗 U1 RNP 抗体	100% (MCTD)
抗 U2 RNP 抗体・抗 U1/U2 RNP 抗体	< 5%
抗 Ku 抗体	50% (SSc-PM OL)
Sjögren 症候群 (SjS)	
抗 SS-B 抗体	20~30%
抗 SS-A 抗体	50~70%

体とループスアンチコアグラント (LAC) の総称である (図 1)。リン脂質結合蛋白を対応抗原とする依存性抗カルジオリピン (β_2 GP I) 抗体が抗リン脂質抗体症候群 (APS) と関連。

⑨ 臓器特異的自己抗体

臓器特異的自己免疫疾患では、臓器特異的自己抗体が診断上参考になる。

⑩ リンパ球サブセット

免疫担当リンパ球は、T 細胞、B 細胞、NK 細胞に分けられ、さらに表面抗原によ

り分類される。膠原病・自己免疫疾患、ウイルス感染症、造血器腫瘍の診断、病態解析、病型分類に、有用である。

⑪ HLA 検査

HLA は白血球表面上のヒト主要組織適合抗原であり、クラス I (HLA-A, B, C) とクラス II (HLA-DR, DQ, DP) に分類される。強直性脊椎炎 (HLA-B27)、Reiter 症候群 (HLA-B27)、Behçet 病 (HLA-B51) などでは、HLA 型と関連。

【諏訪 昭】

混合性結合組織病, Overlap 症候群

- 1人の患者に複数の膠原病の特徴的な症状が認められることがあり、これを膠原病の重複現象という。
- Overlap 症候群 (OL) では、複数の膠原病の分類 (診断) 基準を完全に満たす。
- 混合性結合組織病 (MCTD) では、複数の膠原病の分類 (診断) 基準を完全に満たさず、血清中に抗 U1 RNP 抗体が高抗体価で検出される。

MCTD

① 症状

- ① レイノー現象：ほぼ全例に認められ、初診時の数ヵ月～数年前から出現し、初発症状となる。
- ② 指の腫脹 (sausage like finger), 手背の腫脹 (swollen hands)：MCTD に特徴的で、高率に認められる。手指に局限した皮膚硬化や指の腫脹は強皮症 (SSc) の初期 (浮腫期) でもみられるが、MCTD では全経過を通じて認められる。
- ③ 多関節炎：関節リウマチ (RA) の関節炎より軽度であり、骨破壊が見出されることはまれである。SSc の様相が強い例では、手指関節の変形と骨破壊を伴う場合がある。
- ④ 肺線維症：慢性肺線維症が最も多い。通常は軽症である。

- ⑤ 肺高血圧症 (PH)：PH の病態は不可逆的で、進行性である。MCTD では PH の合併率が高い。
- ⑥ 腎症：一般に軽症のものが多い。
- ⑦ 神経症状：中枢神経障害 (無菌性髄膜炎, 痙攣, 横断性脊髄炎, 小脳失調), 末梢神経障害 (三叉神経障害, 手根管症候群)。無菌性髄膜炎の頻度が高い。
- ⑧ その他：SLE や PM/DM のコンポーネントは経過中に消失することが多いのに対し、SSc のコンポーネントは徐々に増える。

② 診断のポイント

1996 年度厚生省 MCTD 班による診断の手引きを参考に診断する (表 1)。PH の診断は、診断の手引きに従う (表 2)。

③ 治療のしかた

症例により異なった症状を合わせもつため、病型に応じて治療を選択する。MCTD の死因は、PH, 呼吸不全, 心不全が上位を占め、これらの治療が重要である。

OL

① 症状

SLE, SSc, PM/DM の各所見が同一患者に同時にあるいは経過とともにみられる。

▽トピックス▽

難治病態である PH に対して、種々の血管拡張療法が開発されつつある。プロスタサイクリン (エポプレステノール) 持続静注療法は、最も強力な作用を有し、高い有効性を示す。エンドセリン受容体拮抗薬 (トラクリア) は、経口投与が可能で、軽・中等症 PH を含めた広い適応が期待されている。