

200804045A

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20年度 総括・分担研究報告書

平成21年3月

研究代表者 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)	7
(三森 経世, 藤井 隆夫)	
2. 中枢神経症状を呈した抗 U1RNP 抗体陽性膠原病における髄液中の抗 U1RNP 抗体 に関する研究	17
(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	24
(澤井 高志)	
4. 新規マウスモデルを用いた抗 RNP 抗体産生機序の検討	27
(川畑 仁人)	
5. 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3報)	33
(原 まさ子)	
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	39
(田中 廣壽)	
7. MCTD の病態における血管内皮前駆細胞の役割に関する研究	44
(桑名 正隆)	
8. 膠原病肺高血圧症における血中 D-Dimer に関する研究	48
(岡田 純)	
9. 肺動脈性肺高血圧症 (PAH) におけるトロポニン T (TnT) の臨床的意義に 関する研究—PAH におけるマルチバイオマーカーストラタジー—	51
(諏訪 昭)	
10. 膠原病における肺動脈圧の予測値に関する研究	56
(吉田 俊治)	
11. 自己免疫疾患モデルにおける <i>Yaa</i> 遺伝子による MZB 細胞の分化異常に関する 研究	62
(高崎 芳成)	
12. 肺高血圧症の合併した膠原病症例における治療と予後に関する研究	65
(高崎 芳成)	
13. 肺動脈性肺高血圧症に対するエボプロステノールを中心とした多剤併用療法の 効果に関する研究	70
(京谷 晋吾)	
14. MCTD のステロイド治療標準化、および病勢評価法の開発に関する研究	72
(三森 明夫)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	76
IV. 平成 20 年度構成員名簿	84

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

研究代表者： 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動脈性肺高血圧症（PAH）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PAH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PAH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抗体および抗内皮細胞抗体の病因的意義、2)MCTDに合併するPAHの病態の解明と治療法の確立、3)エビデンスに基づくMCTDの治療ガイドラインの策定、4)MCTDおよびPAHの診断基準の検証と改訂、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した。

分担研究者

岡田 純（北里大学健康管理センター・教授）
川畑仁人（東京大学アレルギー内科・助教）
京谷晋吾（国立循環器病センター・医長）
桑名正隆（慶應義塾大学内科・准教授）
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・准教授）
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・准教授）
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（PAH）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PAH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）、PAH診断の手引き（横張班1990）、MCTD治療指針（東條班1995）、PAH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PAH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PAHとの異同を含めてなお多くの問題点が残されている。我々がかかる点を解明し、MCTDのさらなる予後改善のために2005年より本研究班を立ち上げた。本研究は第2期目に当たり、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した。

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）

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して、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患者に対するステロイドの有用性を調べる試験プロトコルを作成し、参加施設における倫理委員会の承認を受け、症例エントリーを開始した。さらに並行して履歴調査研究も行い、班員が所属する臨床施設より過去にPAHを合併しステロイドで加療した症例を後ろ向きに検討することで、上記の臨床・検査所見を集計した。

2. 抗U1RNP抗体および抗内皮細胞抗体の病因的意義

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プロテオーム解析でAECAの対応抗原を解析した（澤井）。中枢神経症状を呈した抗U1RNP抗体陽性膠原病患者の髄液中の抗U1RNP抗体価を血清中抗体価と比較し疾患活動性との相関を検討した（藤井）。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PAHの病態の解明と治療法の確立

MCTD-PAHの病態形成機序を血管内皮細胞の増殖や血管運動性に関与する液性因子、転写因子、末梢血幹細胞などから追及した（田中，原，桑名，岡田，諏訪）。MCTDに合併するPAH（MCTD-PAH）の心エコー検査による診断の妥当性を心カテーテル検査と比較して検討した（吉田）。MCTD-PAH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（高崎，三森明夫）。またMCTD-PAH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. 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した（全員）。

5. MCTD診断基準の検証およびPAH診断基準の改訂

1987年に作成された我が国最初のMCTD診断の手引き（診断基準）と、1997年と2003年に改訂された診断の手引、また1992年に作成されたMCTDに合併するPAH診断の手引きについて、これらのMCTDおよびPAH診断基準の有用性を検証するためのワーキンググループを立ち上げた。

（倫理面の配慮）

プロジェクト研究においては主任研究者および各分担研究者の施設における倫理委員会の承認を得た後に研究を開始し患者へのインフォームドコンセントを遵守した。また各個研究においても、患者からの検体採取・利用を必要とする場合は各施設の倫理委員会の承認とインフォームドコンセント取得を行った。

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。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PAH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試験プロトコルを作成し、エントリーを開始した。

現在まで6例が登録され、Jaisらの効果判定基準では4例(66%)がresponderであった。1例はnon-responder

でボセンタンが追加され、残りの1例はNPSLEの合併によりシクロホスファミドが追加されたため判定不能であった。最大21ヶ月経過観察され、原疾患活動性がある場合、他の免疫抑制薬やPAH特異的血管拡張薬の追加併用をしなくてもステロイドがPAHに有効である症例の存在が明確になった。

また履歷的に調査票が記載された17例では、12例(71%)がresponder, 5例(29%)がnon-responderで、それらの症例の臨床特徴を検討したところ、responderでペラプロストの使用, non-responderで血管炎症状が高頻度であった。

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. 中枢神経(CNS)症状を呈した抗U1RNP抗体陽性膠原病における髄液中の抗U1RNP抗体に関する研究(藤井) :

CNS症状を呈した抗U1RNP抗体陽性SLE/MCTDの髄液中には抗U1RNP抗体が高頻度に検出され、原病による活動性炎症性CNS例では、それ以外の原因によるCNS症例に比し髄液中の抗U1RNP抗体陽性率が有意に高かった。また抗U1RNP髄液/血清比は髄液 IL-6, IgG index, Qalbと相関がなく、SLE/MCTDに関連するCNS症状のより特異的な活動性指標となる可能性が示唆された。さらに髄液中の抗U1-70K抗体価は抗U1-AおよびU1-C抗体価よりも高値を示し、抗U1-70K抗体の抗原エピトープは既報のT・B細胞エピトープと一致し、髄腔内でその産生が刺激されている可能性が示唆された。

2-2. MCTDに伴うPAH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PAH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2DウエスタンとPMFあるいはLC-MS/MSによる検索の結果、U1RNP抗原を含む約20個の抗原候補蛋白質を同定した。得られた抗原候補の組換え蛋白質を用いたウエスタンブロットで、そのいくつかについてはMCTD患者血清との反応性を確認できた。また、ライブラリーを用いたイムノスクリーニングでは、細胞膜にも局在する蛋白質や細胞外蛋白質が抗原候補としてあがった。

2-3. 新規マウスモデルを用いた抗U1RNP抗体産生機

序の検討(川畑) :

ヌードマウスへのT細胞移入による抗核抗体産生の系を樹立し、抗U1RNP抗体の産生機序を追究した。本年度は本系を用いて抗U1RNP抗体産生の制御に関わる細胞群および分子の同定を試みた。制御性T細胞は抗U1RNP抗体産生制御に重要な役割を担っていると考えられたが、その関与は抗ヌクレオソーム抗体より少なかった。一方、RNA受容体であるTLR7は抗U1RNP抗体産生に強く関与し、その阻害により抗U1RNP抗体産生抑制が得られることが示された。また、本系においては抗U1RNP抗体誘導にT細胞受容体特異性を必要としないことが判明した。以上のことより、抗U1RNP抗体産生にはT細胞の増殖自体が重要であり、TLR7を介して産生に至っていると考えられた。

3. MCTDに合併するPAHの自然歴および病態の解明と治療

3-1. MCTD-PAHの発症予測因子NOS2遺伝子多型の前向き研究(原) :

血管拡張因子である一酸化窒素(NO)は、MCTD患者において血清中で増加しているが、PAHを合併した症例では、NOの増加が認められない。このNO産生量の違いにNO合成酵素であるinducible NO synthase (NOS-2) の遺伝子多型が関与することを報告してきた。本年度は発症4年以内のMCTD患者で3年以上の追跡調査を行い、PAHの発症にNOS2遺伝子多型が予測因子になるかどうかを前向き検討で評価した。MCTD患者では健康人に比しET-1およびNOの有意な増加が認められ、経過中にPAHを発症した症例では、NO/ET-1比が有意に低下していた。NOS2遺伝子の-2.5 kb近傍に存在するCCTTT繰り返し配列回数は、後にPAHを発症した症例では低下していることが明らかとなり、NOS2遺伝子多型はPAH発症の遺伝学的指標となる可能性が示唆された。

3-2. 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) :

HEXIMIは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、血管平滑筋・心筋細胞の増殖や心肥大に関与する。MCTD患者におけるPAHとそれに合併する右心肥大の発症や治療法開発におけるHEXIMIの意義を明らかにするために、HEXIMIとその変異体を心筋組織特異的に発現させるトランスジェニックマウス(Tg)を作成した。か

かるHEXIMITgではHIF-1 α をはじめとする転写因子や増殖因子関連分子のmRNAが低下し、心筋リモデリングに関わる遺伝子の発現も抑制されていた。病理組織学的検討では心筋を含めて現時点では異常所見は認めなかった。しかし、低酸素負荷によるPAHモデルでは、野生型マウスでは低酸素分圧下飼育において右室(左室+中隔)重量比が増加したが、HEXIMITgでは増加しなかった。以上より、HEXIMIがPAHによる右室のリモデリング抑制に関わる可能性が示され、PAHにおける新たな治療ターゲットとして浮上した。

3-3. MCTDの病態における血管内皮前駆細胞の役割に関する研究(桑名)： MCTDでは強皮症と同様にレイノー現象などの末梢循環障害や、PAHなどの血管病変を高率に認める。桑名らは強皮症患者では循環血中に存在する血管内皮前駆細胞(EPC)の減少ならびに分化能障害を認め、血管病変の新たな機序として脈管形成異常による血管修復不全を提唱し、MCTDの病態形成におけるEPCの関与を追究した。末梢血単核球から分離したCD34+細胞を用いて、フローサイトメトリーによりCD34+VEGFR2+CD133+細胞を検出し、FlowCountマイクロビーズを用いた定量化により末梢血1mlあたりのEPC数を求めた。その結果、MCTD患者においては、強皮症と同様に末梢血中のEPC数は健常人に比べて有意に減少していた。PAHや間質性肺疾患の有無ではEPC数に差はなかったが、皮膚潰瘍の存在はEPC減少と相関した。MCTDでも強皮症と同様にEPC減少による脈管形成異常に伴う血管修復不全の機転が存在することが明らかとなった。

3-4. 膠原病PAHにおける血中D-Dimerに関する研究(岡田)： 膠原病におけるPAHにおいてplexiform lesionと血栓形成は増悪の重要な因子である。これらの病態を的確にとらえ、治療することはPAHの治療管理上重要である。そこで、膠原病性PAHでの血漿D-Dimerを測定し、その臨床的意義の検討を行った。PAH確定診断例では、D-Dimerは非PAH例に比して有意に高値を示した。また、肺動脈圧とD-Dimerの間には有意な正の相関がみられ、PAH治療の指標として有用である可能性が示された。

3-5. PAHにおけるNa利尿ペプチドとトロポニンT(TnT)の臨床的意義に関する研究(諏訪)： 心房

性および脳性Na利尿性ペプチド(ANP, BNP)およびBNP前駆体N末端断片(NT-proBNP)は、PAHの診断、病態把握上有用であることを報告してきた。一方、TnTは非虚血性の慢性心不全においても微小心筋障害を検出できることが報告されている。膠原病性PAHおよび特発性PAHを対象として、TnTを測定したところ、慢性心不全患者において、TnTとBNPまたはNT-proBNPは独立の予後規定因子であるが、PAHにおいても両者の高値例の存在が示された。TnTはPAHの予後推定の指標となる可能性が示唆され、Na利尿ペプチドとともにマルチバイオマーカーアプローチの有用性が期待される。

3-6. 膠原病における肺動脈圧の予測値に関する研究(吉田)： PAHの定義とされる右心カテーテル平均肺動脈圧25mmHg以上に該当する超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧の具体的数値を明らかにすることを試みた。右心カテーテル検査を施行した膠原病患者のべ23回の結果の解析により、右心カテーテルによる平均肺動脈圧は収縮期肺動脈圧と有意な相関を認め、平均肺動脈圧25mmHgに相当する収縮期肺動脈圧は39mmHgであった。一方、右心カテーテルによる収縮期肺動脈圧および平均肺動脈圧は超音波心ドップラー法による推定収縮期肺動脈圧とも有意な相関を認め、右心カテーテル平均肺動脈圧25mmHgに相当する超音波心ドップラー法の推定収縮期肺動脈圧は43mmHgと考えられた。この成績は今後、MCTD-PAH診断基準の改訂における有用な情報となる。

3-7. PAHを合併した膠原病症例における治療と予後に関する研究(高崎)： PAHの生命予後改善が可能な治療法の確立を目的として、PAHを合併する膠原病の基礎疾患別に既存の治療法による有効性をレトロスペクティブに検討した。その結果、基礎疾患や間質性肺炎などの肺合併症の有無、心臓超音波検査による推定右室圧の高低にかかわらずステロイド剤やベラプロスト、ワルファリン、Ca拮抗剤、低用量アスピリンなどによる治療は生命予後に対して統計学的に有意な効果は得られなかった。シルデナフィルやボセンタンは症例数が少なく有効性は判断できなかった。さらに患者背景と予後についても検討を加えたところ、原疾患の高齢発症、およびPAHの高齢合併は有意差をもって予後不良因子であることが

明らかとなった。

3-8. PAH に対するエボプロステノールを中心とした多剤併用療法の効果に関する研究（京谷）： 近年 PAH に対し有効性が認められる薬剤がいくつか開発され、それぞれの単独治療効果は確かめられてきたが、それらの併用療法の効果については十分には評価されていない。今回エボプロステノールを中心とした多剤併用療法の効果を調べたところ、ボセンタンの併用療法においては概ね相加的効果が見られたが、シルデナフィルの場合には一部著効する症例のみみられる反面、ほとんど追加的効果の見られない症例が多く、有意な改善はみられなかった。今後更に至適投与量や追加時期、3 剤の組み合わせ法を変えた場合の効果などを検討していく必要がある。

3-9. MCTD のステロイド治療標準化、および病勢評価法の開発に関する研究（三森明夫）： MCTD の治療方針では、軽症病態に治療介入する利点が未確定である。MCTD87 例の完全な情報を基に長期経過の再発パターンを統計解析した。初期治療用量は数値化した病勢に対応して層別化されたが、要治療病態全般の続発は、無治療群にのみ高率にみられ、低用量群では低率かつ筋炎病態の続発は皆無だった。この結果は既報と一致し、MCTD の軽症病態にもステロイド治療を行なう利点があり、低用量でよいことが確認された。

4. 抗 U1RNP 抗体陽性例のプロジェクト多施設共同研究（岡田および研究分担者）

抗 U1RNP 抗体単独陽性例についてその臨床像と自然歴を明らかにするため、1999 年より多施設共同プロスペクティブ研究を行っている。近藤班で 1999 年～2003 年に登録された抗 U1RNP 抗体陽性症例 185 例の追跡調査を行い、2008 年度に 125 例を更新し、臨床像の変化の有無を検討した。平均観察期間は 4.3 ± 3.1 年で、脱落例 55 例、死亡 6 例であった。初診時の疾患別内訳は、MCTD75、SLE48、SSc17、UCTD20、Sjögren 症候群 14、RA15、Overlap 症候群 2、その他 2 例であったが、23 例で最終診断が初診時診断から変更されていた。最終診断での MCTD への移行は 23 例中 10 例と最も多かった。一方、PAH は 12 例より 17 例に増加した。以上、抗 U1RNP 抗体陽性例の長期経過観察で、MCTD の診断基準を満たす症例が最も多く、また PAH の新たな発症もみ

られ、MCTD の疾患概念を支持する成績と考えられた

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）

MCTD の治療に関する過去 20 年間の文献のシステマティックなレビューによりエビデンスレベルの分類（レベル I～VI）を行い、これらを元に現時点で最も信頼性の高いと考えられる MCTD の治療法を整備して、エビデンスに基づいた MCTD の治療ガイドラインを作成した。それぞれの治療法にはエビデンスレベルなどから勘案した推奨度（A～D）を設定した。MCTD の治療ガイドラインとしては現時点で最良のものが作成されたと考えられる。このガイドラインはすでに平成 19 年度に完成していたが、本年度にマイナーな改訂を行った。印刷して全国の主要な膠原病を専門とする医療施設へ配布するとともに、ウェブサイトで公開する予定である。

6. MCTD 診断基準の検証および PAH 診断基準の改訂（全員）

MCTD 班では 1987 年に最初の診断の手引き（診断基準）が策定され、1997 年と 2003 年に改訂された。また、1992 年に MCTD に合併する PAH 診断の手引きが作成された。これらの MCTD および PAH 診断基準の有用性を検証する目的で、ワーキンググループを立ち上げ、分担研究施設より症例を提出してもらい、いずれのバージョンが最も診断に適するかの作業にとりかかった。その結果を元に再改訂を検討する。

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 PAH 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わるかについてはなお不

明である。生命予後の悪いPAH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PAH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で研究を続けてきた。MCTDのPAHは原発性PAH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PAH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PAHの病態の解明と治療法の確立、を重点研究課題として各個研究が遂行され、一定の成果が得られたと考える。プロジェクト研究として、抗U1RNP抗体陽性PAH患者に対するステロイド療法の前向き研究を遂行中であるが、患者エントリー数がまだ少なく、今後もエントリーと解析を続けたい。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。また、MCTDの診断およびMCTDに合併するPAHの診断に関しては、歴代のMCTD班で作成された優れた診断基準があるが、これまで検証がなされていなかったため、将来の再改訂を視野に入れて有用性の検証を行うこととした。MCTDは当初考えられていたほど予後の良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。診断基準の整備と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ろう。

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

G. 知的財産権の出願・当録状況

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-

研究代表者： 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
研究分担者： 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

班員が所属する臨床9施設の共同研究により、抗U1RNP抗体陽性肺動脈性肺高血圧症（PAH）患者に対する副腎皮質ステロイド（CS）の有用性をプロスペクティブ研究で明らかにすることを目的とした。現在まで6例が登録され、Jaisらの効果判定基準では4例（66%）がresponderであった。1例はnon-responderでボセンタンが追加され、残りの1例はneuropsychiatric SLEの合併によりシクロホスファミドが追加されたため判定不能であった。最大21ヶ月経過観察され、原疾患活動性がある場合、他の免疫抑制薬やPAH特異的血管拡張薬の追加併用をしなくてもCSがPAHに有効である症例の存在が明確になった。また履歴的に調査票が記載された17例では、12例（71%）がresponder、5例（29%）がnon-responderで、それらの症例の臨床特徴を検討したところ、responderでベラプロストの使用（50% vs. 0%、 $P=0.07$ ）、non-responderで血管炎症状（0% vs. 60%、 $P<0.05$ ）が高頻度であった。一方、疾患活動性がなく早期あるいは進行性のPAHにおけるCS有用性についてはより多くの症例集積が望まれる。

A. 研究目的

本研究では、抗U1RNP抗体陽性肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension: PAH）患者における副腎皮質ステロイド（corticosteroid: CS）治療に関するエビデンスを構築することを目的とした。本会議で作成した研究計画を用い、抗U1RNP抗体陽性の膠原病に伴うPAH患者において、中等量以上のCSにより自覚所見（息切れや6分間歩行距離）や検査所見（心臓超音波検査）を専門とする多施設でプロスペクティブに観察した。また同時に履歴的に調査された17例の症例をresponderとnon-responderとに分類し、臨床特徴の相違を検討した。

B. 研究方法

昨年度と同様であるが、以下に簡潔に記載する。

1. 目標症例数

30例（全施設合計）

2. 研究組織

責任医師：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）
共同研究施設（担当医師）：

京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学（藤井 隆夫）*

北里大学健康管理センター（岡田 純）

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）

東海大学医学部 内科学系（諏訪 昭）*

順天堂大学医学部 膠原病内科（高崎 芳成）

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）

国立国際医療センター 膠原病科（三森 明夫）*

藤田保健衛生大学医学部 リウマチ感染症内科（吉田 俊治）*

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

3. 適格基準

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。

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、エボプロステノール、ベラプラスト、シルデナフィール、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、エボプロステノール、ベラプラスト、シルデナフィール、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

下記の自覚症状、検査項目を総合的にみとうえて

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）
- 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）
- 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）

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
- 血液検査
- 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）
- 運動耐用量（6分間歩行距離）
- 原病活動性の評価（たとえばSLEの場合、SLEDAI/BILAGの測定）

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

6. 有害事象

1) 有害事象の定義

試験期間中に起きた、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

本研究は、京都大学医学部 医の倫理委員会で承認された研究である（C136号）。患者を組み入れた各施設においても倫理委員会で審査・承認済みである。

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。

8. 履歴調査研究

なお、履歴調査研究では、班員が所属する臨床施設より、いままでにPAHを合併しステロイドで加療した症例を後ろ向きに検討してもらい、上記の臨床・検査所見を集計した。

9. 有効性の判定

本年度は、PAHにおけるCSの有効性を客観的に評価するために、Jaisらの報告（*Arthritis Rheum* 58: 521-531, 2008）で使用された基準を用いて評価した。

すなわち、免疫抑制薬、肺高血圧特異的な血管拡張薬の新たな追加併用をすることなく、1) NYHA I-II度を維持でき、かつ2) hemodynamic improvementを認めた場合を、有効（responder）と判断した。ここでhemodynamic improvementとは、i) mPAP（右心カテーテル検査がされていた場合のみ） $< 40\text{mmHg}$ 、ii) 超音波ドプラー法による推定肺動脈圧が右心カテーテルのmPAP $< 40\text{mmHg}$ に相当、iii) 心係数（cardiac index: CI）が正常範囲（ $2.5\text{--}4.2\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ ）、のいずれかをさす。

C. 研究結果

1. プロスペクティブ研究

京都大学、国立国際医療センター、東海大学より計6例がエントリーされた。男性1例、女性5例であった（表1）。4例がSLEでありNYHA分類はII-III度であった。3例（症例1、3、4、6）で疾患活動性（ループス腎炎、間質性肺炎、血小板減少）に対して、2例（症例2、5）でPAHに対してCSが開始あるいは増量されていた。なおこれらのエントリー症例はいずれも抗U1RNP抗体陽性であるが、抗SS-A抗体や抗Sm抗体も高頻度に認められた（表2）。

Borg dyspnea index、6分間歩行距離（6MWD）、血中BNP値を図1に示した。症例数が少なく有意差は認めなかったが、6分間歩行はCS治療後に400m以上に増加した症例が認められた。血液検査（図2）では、尿酸値と血清IgG値はCS治療後に有意に低下した。

超音波心ドプラー法により推定した肺動脈平均圧は5例中1例をのぞいて改善傾向が認められた（図3）。しかし全例で計算した場合にはCS治療前後の有意差はなかった。心拍出量も測定できた5例中4例で増加していた（図4）。同様に心係数（cardiac index: CI）もその4例で改善したが、うち3例では正常化した。図には示していないが、右心不全徴候はCS導入前6例中3例に認めたが2例で消失した。これらの症例では左室長径が増加していた（図4）。また肺血管抵抗も測定しえた2例で改善した。

Jaisらの基準を用いると、6例中4例（症例3-6）で有効、1例ではNYHA 分類はII度に保たれたが、hemodynamic improvementが満たされず無効（症例2）、1例はNP-SLE発症のためシクロホスファミド（以下CPA）の追加併用を要したため判定不能（症例1）で

あった(表2)。なお無効例はその後ボセンタンが追加された。一方ステロイド糖尿病の増悪(2例)、骨粗鬆症による圧迫骨折(2例)といった副反応を認め、症例6では経過中に狭心症を発症したために硝酸イソソルビドが追加、その時点で脱落となった。しかし症例1と異なり、その時点ですでにresponderと判断できた。なお、疾患活動性に対してCSが使用あるいは増量された症例4例中3例で有効、疾患活動性が明らかではないが、早期あるいは進行性PAHに対して使用された場合は2例中1例で有効と判定された。

2. 履歴調査研究

班員が所属する施設から20例の調査表を回収し、データが不十分であった3例をのぞいた17例でCSに対するresponderの特徴を検討した。responderは12例、non-responderは5例であったが、興味深いことに主治医の有効性評価と事務局でJaisらの基準に照らし合わせた有効性評価はほぼ一致していた。両者の臨床特徴を比較すると、使用されたCS量には差はなかったが、non-responderにCSパルス療法使用例が多い傾向があり、responderにベラプロスト使用例が多い傾向が認められた(表3)。またnon-responderで、皮膚潰瘍などの血管炎症状が有意に高頻度に認められた。抗U1RNP抗体以外の抗核抗体のプロファイルに差はなかった。

血液検査ではresponderにおいて、CS治療後のUA、ESR、IgGが有意に低下しており、肺動脈収縮期圧の低下も明らかであったが、CS開始前の測定値には差は認められなかった(表4)。またresponderではNYHA IV度の患者でも2例ともIないしII度に改善していた。

D. 考察

現在まで、膠原病性肺高血圧症に対してCSを使用し、プロスペクティブに検討した報告はない。本研究を班会議のプロジェクト研究とした意義として、①多施設で検討できること、②エントリーおよび評価基準を統一したプロスペクティブ研究であること、③また膠原病の専門施設でPAHによる胸部症状がでる以前の早期PAH症例のエントリーができる可能性があること、などがあげられる。しかし本年度の班会議において、症例エントリーの困難さも指摘された。その理由として、i) 膠原病性PAHに対しては診断時からCS単独では治療を行わずCPAを併用するプロ

トコールとしている施設が存在すること、ii) PAHがきわめて重篤な病態であるためにPAH特異的血管拡張薬(以下PAH血管拡張薬)を含まない治療に関して不安を抱く医師が存在すること、iii) もともと頻度が少なく、さらにPAH特異的血管拡張薬の治験などでエントリー可能な症例数が限られること、が明らかとなった。また最近、強皮症患者では肺線維症の合併がPHの予後を悪くすることが示され(Mathai SC, et al, *Arthritis Rheum* 60: 569-577, 2009)、合併する肺線維症の評価をより詳細に行うべきとの指摘を受けた。

原疾患活動性の有無によらず膠原病性PAHに対してCS単独ではなくCPA併用でその有効性を示唆した報告は複数存在する。田中ら(*J Rheumatol* 29: 282-289, 2002)は12例のSLE患者(うち4例は強皮症の合併あり)において、Ca拮抗薬やPG製剤などのconventional therapyに反応しない8例を履歴的に検討した。その結果、8例中7例で有効であり、その後の再燃時にも免疫抑制薬がPAHに有効と報告している。またSanchezら(*Chest* 130: 182-189, 2006)はPAH血管拡張薬、免疫抑制療法が行われたことのない膠原病性PAH 28例(SLE 13, MCTD 8, 強皮症 6, 関節リウマチ 1例; 82%が女性で平均年齢40歳)に対して抗凝固薬、利尿薬、酸素療法に加えCPA(間歇静注療法)を600 mg/m²で開始し、必要に応じてCSを併用した。その結果28例中8例(29%)が本研究とほぼ同じ判定基準で有効(responder)であった。しかし白血球減少症や感染症などの副作用が高頻度であった。さらに最近同グループからSLEおよびMCTD患者23例に対してCPA間歇静注療法(600mg/m²を月1回、計6回)とCS(プレドニゾロン0.5-1mg/kg/日)の効果が報告された(*Arthritis Rheum* 58: 521-531, 2008)。PAH血管拡張薬を使用しなくても50%が有効と判断され、治療開始時にNYHAがI-II度であるか、cardiac index (CI) が3.1 L/min/m²であった患者において、より免疫抑制療法に反応性が高いとした。なお有意差はなかったが、有効例では抗dsDNA抗体/抗Sm抗体陽性例やSLEDAIで計算された活動性が高い症例が多い傾向にあった。さらに古くはMCTD患者においてCSとCPA間歇静注療法で10年間生存した症例も報告されている(Dahl M, et al, *J Rheumatol* 19: 1807-1809, 1992)。以上から、原疾患活動性が

明らかでなく、PAHが進行性である場合にはCS単独ではなくCPA併用の有効性が強調される。今回の症例2でもPAHに対してCSは無効であった。

しかし一方で、CS単独でSLEに伴うPAHが改善した症例の報告 (Goupille P, *et al*, *J Rheumatol* 21: 1976-1977, 1994) や、SLEに関連するPAHに対してCSを含めた免疫抑制療法は必ずしも有効でないとする報告がある (Asherson RA, *et al*, *J Rheumatol* 17: 1292-1298, 1990, Sato M, *et al*, *Intern Med* 33: 540-542, 1994, Koyama S, *et al*, *Intern Med* 35: 39-42, 1996)。特に本邦では、CPAが保険薬になっていないこと、血球減少や日和見感染症が問題になることから、重症ループス腎炎や本研究の症例1のようなNP-SLEの患者をのぞき、早期からの併用は十分に検討すべきであろう。今回エントリーされた6例のうち、短期間のデータではあるが4例はCS単独で有効と考えられた。事務局の施設 (京大) の著効例 (症例3) は21ヶ月経過良好である。このように原疾患活動性を有し、その病態や重症度から必ずしもCPAを必要としない症例では、PAHに対してもCPAは不要ではないだろうか。今後、CS単独よりもCPA併用が真に有用かどうかについても検討する必要がある。

ボセンタンなどのPAH血管拡張薬が必須となる症例が存在することは過去の報告からも明白である。最近では数種類のPAH血管拡張薬が使用できるようになり、またNYHA II度から使用が可能なものも存在する。しかしPAH血管拡張薬は対症療法と考えられ、CSやCPAでPAHを寛解に持ち込めればより患者QOLは向上すると考えられる。肝障害や低血圧などPAH血管拡張薬の副作用も少なくない。

今回は、CSに対するresponderとnon-responderでその臨床特徴に差がないかも検討したが、有意差を認めたのは血管炎様症状のみであった。この結果は、PAH血管拡張薬を必要としたのではなく、重症な病態に対しより強力な免疫抑制療法を必要とした症例であった可能性を示唆する。一方有意差は認めなかったが、responderにベラプロスト併用例が多かったことは、ベラプロストにCSを追加併用する治療の有効性を示唆している。原疾患活動性がある場合には、PAH血管拡張薬のみでは治療しにくい。ほぼすべての施設からPAH血管拡張薬を使用することなくCSのみでPAHを治療できた症例 (履歴研究の調査票)

が提出されたことからMCTDあるいは抗UIRNP抗体陽性SLEのPAHで、特に原疾患活動性が高いときにはPAHについてもCSの反応性をみた上でPAH血管拡張薬を検討してもよいと考えられる。

班員の一部から、施設によりプロトコールが異なる以上、エントリーできなかった症例が実際に何例いるかを提出させた方がよいとの意見をいただいた。今後、さらに症例を増やす必要があるとともに、全症例における本研究にエントリーされた症例の割合を明確にすることを考えている。

E. 結論

抗UIRNP抗体陽性膠原病患者のPAHに対するCSのエビデンスを明確にするためにはより多くの症例集積が必須である。なお原疾患活動性があるがCPAの適応が明らかでない場合、CPA、PAH血管拡張薬を追加併用しなくてもCS単独でPAHに著効を示す症例は存在する。

F. 健康危険情報

なし

H. 知的財産権の出現・登録状況

なし

表1-1. エントリー症例の特徴(1)

症例	原疾患	NYHA分類	合併症(主要なもの)	CS使用量(mg/日)	
1	SLE	II	ループス腎炎、PAH	15→	35
2	SLE	II	PAH、甲状腺機能低下症	17→	50
3	SLE	III	ループス腎炎、血小板減少症 PAH	20→	42
4	シェーグレン 症候群	II	間質性肺炎、PAH	0→	45
5	強皮症	II	PAH	0→	40
6	SLE	II	血小板減少、多関節炎、肝不全	0→	60

SLE, systemic lupus erythematosus; PAH, pulmonary arterial hypertension

表1-2. エントリー症例の特徴(2)

症例	抗U1RNP抗体価 (index)	その他の抗核抗体	抗リン脂質 抗体	併用された治療 (CS以外の主要なもの)
1	111	抗Sm抗体 抗SS-A/Ro抗体	-	ワーファリン、ベラプロスト
2	245	抗Sm抗体 抗SS-A/Ro抗体	-	ベラプロスト
3	60	抗Sm抗体 抗SS-A/Ro抗体	-	シクロスポリン、利尿薬
4	126	抗SS-A/Ro抗体 抗SS-B/La抗体	-	在宅酸素療法
5	38	抗Scl-70抗体	-	なし
6	82.7	なし	-	利尿薬

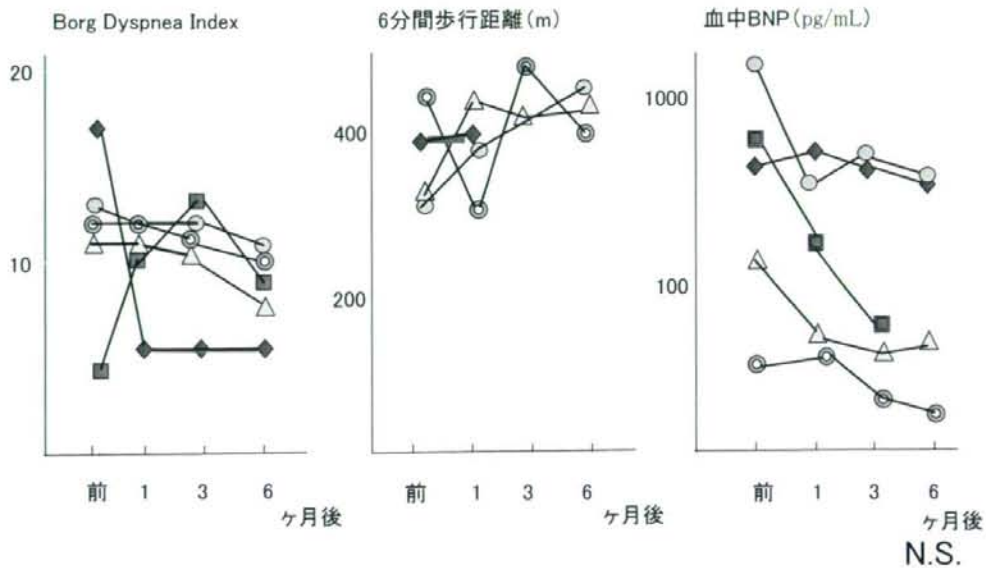


図1. 自覚症状と心機能

Bord Dyspnea indexでは4例で、6分間歩行では3例で、BNPでは5例全例で改善傾向が認められたが、CS治療前後で明らかな有意差は認めなかった。

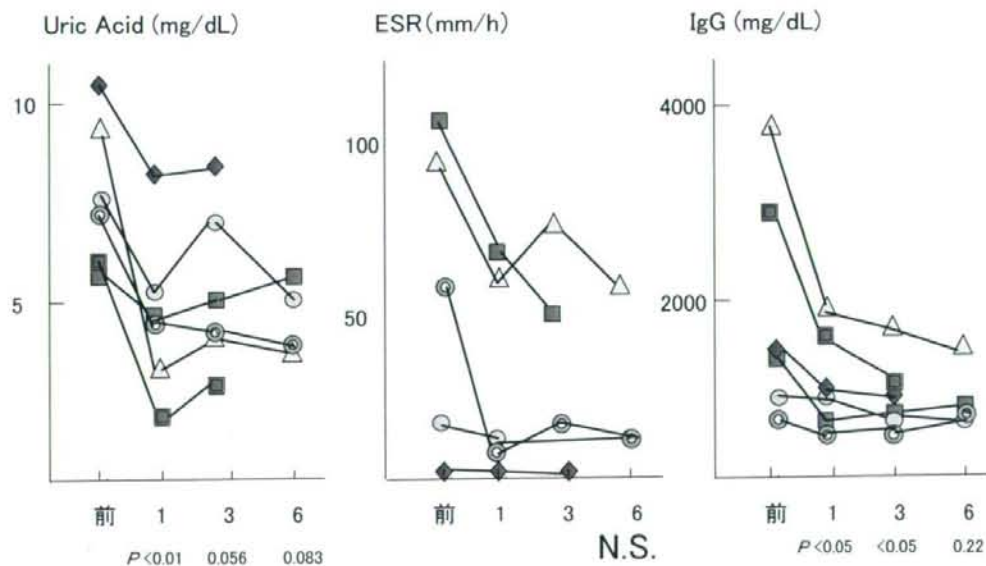


図2. 血液検査

ESR(赤血球沈降速度)は有意差を認めなかったが、尿酸値と血清IgGはCS治療1ヶ月後に低下していた。

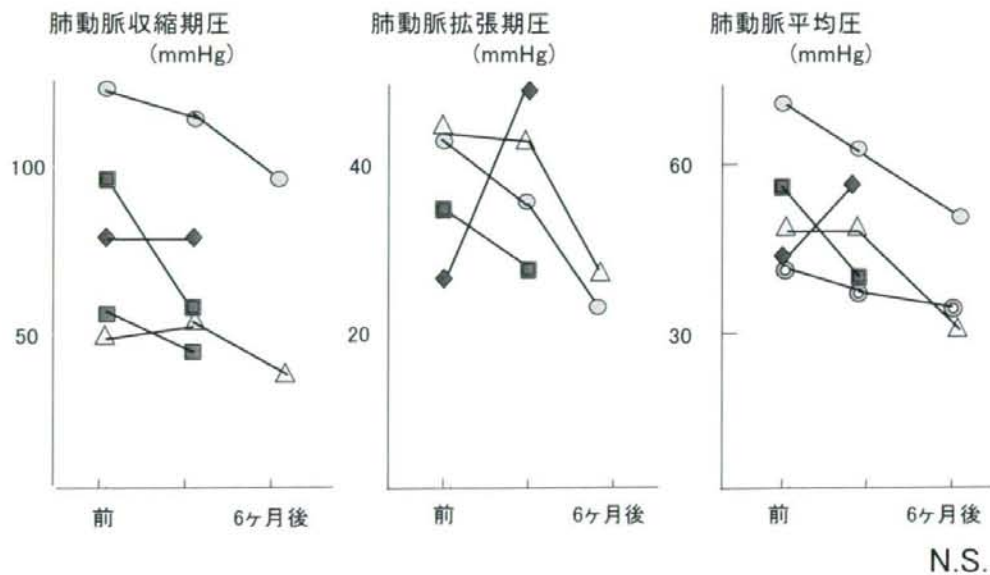


図3. 超音波心ドプラー法による肺動脈圧

症例数が少ないため有意差は認めなかったが肺動脈平均圧が測定しえた4例のうち、3例で圧の低下が認められた。

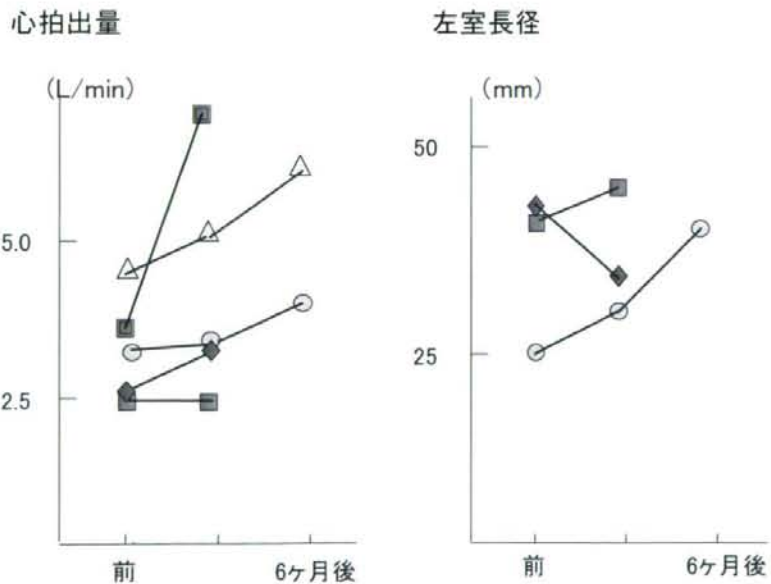


図4. 超音波心ドプラー法による心拍出量と左室長径

心拍出量を推定し得た5例中4例で心拍出量は増加していた。また2例で左室長径の増加が認められた。

表2. エントリー6症例におけるCSの有効性と有害事象

症例	経過観察期間 (ヶ月)	最終観察時 NYHA分類	hemodynamic improvement	判定	有害事象
1	2.5 (IVCY導入まで) 17 (CS+IVCY)	II	- (IVCY追加まで) + (IVCY追加後)	判定不能	NP-SLE 糖尿病
2	1 (ボセンタン導入)	II	-	non-responder	糖尿病
3	21	II	+	responder	腰椎圧迫骨折
4	15	II	+	responder	(記載なし)
5	17	II	+	responder	圧迫骨折
6	2 (硝酸イソソルビド開始)	II	+	responder (短期的)	狭心症

IVCY, intravenous cyclophosphamide; NP-SLE, neuropsychiatric systemic lupus erythematosus

表3. responderとnon-responderの臨床特徴の比較(履歴研究)-1

	responder (12)	non-responder (5)	P
年齢(歳)	41.2±9.7	38.8±11.5	NS
SLE:MCTD	7:5	3:2	NS
使用されたCS量(mg)	52.1±15.6	44.0±15.1	NS
CSパルス療法施行例	17%	60%	0.1
ベラプロスト併用	50	0	0.07
血管炎症状を有する症例	0	60	<0.05
抗核抗体(陽性率)			
Sm	42	20	NS
DNA	75	40	NS
SS-A	50	60	NS
リン脂質	33	20	NS

SLE, systemic lupus erythematosus; MCTD, mixed connective tissue disease; CS, corticosteroid

表4. responderとnon-responderの臨床特徴の比較(履歴研究)-2

	responder (12)	non-responder (5)	P
年齢(歳)	41.2±9.7	38.8±11.5	NS
SLE:MCTD	7:5	3:2	NS
使用されたCS量(mg)	52.1±15.6	44.0±15.1	NS
CSパルス療法施行例	17%	60%	0.1
ベラプロスト併用	50	0	0.07
血管炎症状を有する症例	0	60	<0.05
抗核抗体(陽性率)			
Sm	42	20	NS
DNA	75	40	NS
SS-A	50	60	NS
リン脂質	33	20	NS