

は代表的な筋炎特異抗体で、現在 8 種類報告されている。その中で多数を占める抗 Jo-1 抗体陽性例の臨床特徴から、IP を併発する PM と関連する均質な病像を呈するとされてきた。しかし、抗 KS 抗体、抗 PL-12(alanyl tRNA 合成酵素)抗体と同様、筋炎よりむしろ IP と密接に関連することが確認された。さらに、抗 KS 抗体陽性例が高頻度(27%)に、悪性腫瘍を併発した点が注目された。これらの成績は、各抗 ARS 抗体特異性による関連病像の多様性を示している。一方、IP の経過は慢性型で、UIP、NSIP の所見を呈し、従来の抗 ARS 抗体陽性例の肺病変の特徴に一致していた。抗 PL-12 抗体と同様、抗 KS 抗体が DR2 を高頻度に持ち、HLA classII と病像との密接な関連が示唆された。

【治療抵抗性筋炎と IP に対するタクロリムスの有用性】治療抵抗性筋炎に対して tac の有効性が認められた。特に、PSL 投与量が比較的多い状態で開始し、tac の血中濃度を維持することにより、有効性が得られると考えられた。筋炎に併発する IP に対しても有効性が認められ、特に IP が改善した 2 例は抗 Jo-1 抗体陽性であり、有用である可能性が考えられた。有害事象は、既存の耐糖能障害、高尿酸血症の増悪が主で、比較的安全と考えられたが、IP 増悪を 1 例認めており、tac 投与前から筋炎の疾患活動性が上昇しており自然経過であった可能性もあるものの、慎重な経過観察を要すると考えられた。

【膠原病に合併するニューモシスチス肺炎の CT 所見と臨床特徴との関連性】膠原病に合併する PCP において、発症時 CT 所見のパターンによって、臨床像が異なっていた。type A パターンの CT 所見を呈した症例では、嚢子検出による診断率や血清  $\beta$ -D-グルカン値が低いこと、BALF 総細胞数が多いことから、ニューモシスチスの菌体量が少数であるが炎症が強いことが推測される。PCP は菌体自身の障害のみならず過剰な免疫反応が肺障害を引き起こしているとされ、特に膠原病における PCP は、HIV と比して少数の菌体でも免疫反応が激しい可能性も報告されている。CT 所見によって異なる臨床特徴が認められたことは、病態の違いを反映している可能性がある。

り、今後、症例を集積し、経時的变化を含めて検討をしていく必要が示唆された。

## E. 結論

【抗 KS 抗体の臨床・免疫遺伝学的特徴】抗 KS 抗体は「抗 ARS 抗体症候群」の臨床症候を呈するが、筋炎所見を認めず、慢性型 IP と密接に関連し、その病像形成に免疫遺伝学的背景の関与が示唆された。今後、症例の集積により同抗体と関連する臨床病態をより明確にするとともに、その産生機序の解明が重要な課題と考えられる。

【治療抵抗性筋炎と IP に対するタクロリムスの有用性】tac は治療抵抗性筋炎に対して有効であり、筋炎に併存する IP に対しても効果が期待され、その安全性も高いと考えられた。

【膠原病に合併するニューモシスチス肺炎の CT 所見と臨床特徴との関連性】膠原病における PCP は、CT 所見によって異なる臨床特徴を呈していた。今後の早期診断や治療法の検討のために、さらなる症例集積と検討が必要と考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hirakata M, Suwa A, Takada T, Sato S, Nagai S, Genth E, Song YW, Mimori T, Targoff IN. Clinical and immunogenetic features of patients with autoantibodies to asparaginyl-transfer RNA synthetase. *Arthritis Rheum.* 56(4):1295-1303, 2007
2. Sato S, Kuwana M, Hirakata M. Clinical characteristics of Japanese patients with anti-OJ (anti-isoleucyl-tRNA synthetase) autoantibodies. *Rheumatology* 46(5):842-845, 2007
3. Sato S, Takada T, Katsuki Y, Kimura N, Kaneko Y, Suwa A, Hirakata M, Kuwana M. Longterm

- effect of intermittent cyclical etidronate therapy on corticosteroid-induced osteoporosis in Japanese patients with connective tissue disease: 7-year followup. *J. Rheumatol.* 35(1):142-146, 2008
4. 白井悠一郎, 小泉加奈子, 小川理絵, 鈴木貴博, 小井戸則彦, 大曾根康夫, 秋月哲史, 高田哲也, 平形道人, 石原傳幸: 抗 signal recognition particle (SRP)抗体が検出されたステロイド療法抵抗性多発性筋炎の一例. 日本内科学会雑誌 96(11):2522-2524, 2007
  5. 平形道人: Journal Club (a novel autoantibody to a 155-kd protein is associated with dermatomyositis./ cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease.) 分子リウマチ, 4(2):94, 2007
  6. 平形道人, 金子祐子: 診断ピットフォール-症例から学ぶ-IV 膠原病/筋痛. 内科, 99(6):1293-1300, 2007
  7. 平形道人: 多発性筋炎・皮膚筋炎における自己抗体と発症機序. 分子リウマチ, 4(3):69-76, 2007
  8. 平形道人: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体とその臨床的意義. リウマチ科 38(5):478-485, 2007
  9. 金子祐子, 平形道人: 多発性筋炎に対するタクロリムスの効果. リウマチ科 38(6):556-560, 2007
  10. 平形道人: 多発性筋炎・皮膚筋炎における自己抗体とその臨床免疫学的意義. 日本臨床免疫学会雑誌 30(6):444-454, 2007
  11. 平形道人: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) 抗体とその臨床的意義 抗 ARS 抗体関連肺病変など. 日本胸部臨床. 67(5):359-369, 2008
  12. 平形道人: 膠原病における自己抗体. 臨床検査 52(5):504-510, 2008
  13. 平形道人: リウマチ・結合織疾患 多発性筋炎・皮膚筋炎. 総合臨床 57:1299-1304, 2008.
  14. Kaneko Y, Suwa A, Hirakata M, Ikeda Y, Kuwana M. Clinical associations with autoantibody reactivities to individual components of U1 small nuclear ribonucleoprotein *Lupus*. In print
  15. Takada T, Hirakata M, Suwa A, Kaneko Y, Kuwana M, Ishihara T, Ikeda Y. Clinical and histopathological features of myopathies in Japanese patients with anti-SRP autoantibodies. *Mod Rheumatology* 19(2):156-64, 2009
  16. Suwa A, Hirakata M, Kaneko Y, Sato S, Suzuki Y, Kuwana M. Successful treatment of refractory polymyositis with the immunosuppressant mizoribine: case report. *Clin Rheumatol.* 28(2):227-229, 2009
- ## 2. 学会発表
1. Hirakata M, Suwa A, Takada T, Kaneko Y, Sato S, Kuwana: Clinical Features of Japanese Patients with Anti-Asparagimyl tRNA synthetase autoantibodies. The Immunogenetic Backgrounds. 71<sup>st</sup> annual meeting of American College of Rheumatology, 2007 Nov, Boston
  2. Takada T, Hirakata M, Katsuki Y, Kaneko Y, Sato S, Kuwana M, Suwa A, Ishihara T: Myositis-specific Autoantibodies Are Associated with Specific Histopathological Characteristics on Muscle Biopsies. 71<sup>st</sup> annual meeting of American College of Rheumatology, 2007 Nov; Boston
  3. Suwa A, Hirakata M, Sato T, Kaneko Y, Sato S, Kuwana M, Sait E, Wakabayashi T, Suzuki Y: N-Terminal Pro-Brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of pulmonary artery hypertension in connective tissue disease. 71<sup>st</sup> Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2007 Nov, Boston
  4. Hirakata M, Takada T, Kaneko Y, Kuwana M: Clinical Features are Governed by



- Immunogenetic Background in Japanese Patients with Anti-Aminoacyl tRNA Synthetase Autoantibodies. 72<sup>st</sup> Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2008 Nov, San Francisco
5. Sato S, Hoshino K, Satoh T, Suwa A, Hirakata M, Inada S, Kuwana M. MDA5 (Melanoma-Differentiation-Associated Gene 5) as an Autoantigen Recognized by Anti-CADM-140 Antibody in Patients with Clinically Amyopathic Dermatomyositis. 72<sup>st</sup> Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2008 Nov, San Francisco
  6. 平形道人, 高田哲也, 香月有美子, 金子祐子, 木村納子, 古屋善章, 花岡洋成, 佐藤慎二, 桑名正隆: 筋炎特異自己抗体の特徴に関する研究. 第51回 日本リウマチ学会総会, 2007年4月, 横浜
  7. 金子祐子, 平形道人, 花岡洋成, 古屋善章, 高田哲也, 香月有美子, 木村納子, 佐藤慎二, 諏訪 昭, 桑名正隆: 多発性筋炎に対するタクロリムスの効果. 第51回 日本リウマチ学会総会, 2007年4月, 横浜
  8. 佐藤慎二, 平形道人, 金子祐子, 諏訪 昭, 桑名正隆: 筋炎特異および関連自己抗体を用いた皮膚筋炎の病型分類の検討. 第51回 日本リウマチ学会総会, 2007年4月, 横浜
  9. 谷口義典, 公文義雄, 高田浩史, 香川 亨, 井上真理, 有井 薫, 橋本浩三, 金子祐子, 平形道人: 当科で経験した嚙下障害を合併した多発筋炎皮膚筋炎の3例の臨床的特徴. 第51回 日本リウマチ学会総会, 2007年4月, 横浜
  10. 金子祐子, 諏訪昭, 平形道人, 桑名正隆: U1RNP構成成分に対する自己抗体の多様性と臨床症状. 第52回 日本リウマチ学会総会, 2008年4月, 札幌
  11. 平形道人, 諏訪昭, 高田哲也, 香月有美子, 金子祐子, 佐藤慎二, 桑名正隆抗 KS (asparaginyl tRNA 合成酵素:AsnRS)抗体の臨床・免疫遺伝学的特徴に関する研究. 第52回 日本リウマチ学会総会, 2008年4月, 札幌
  12. Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, Kuwana M. Predictors of short-term radiological progression in Japanese patients with disease modifying antirheumatic drug (DMARD)-naïve rheumatoid arthritis: A single centre prospective study. 10<sup>st</sup> annual congress of the European League against Rheumatism, 2009 June, Copenhagen
  13. Hanaoka H, Okazaki Y, Satoh T, Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, Kuwana M: Emergence of Circulating Anti-Double Strand DNA (dsDNA) Antibody-Secreting Cells Predicts Disease Flare in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. 73<sup>st</sup> annual meeting of American College of Rheumatology, 2009 Nov, Philadelphia
  14. Hirakata M, Takada T, Kaneko Y, Hardin JA.: Development of the Novel Assay System for Detecting Anti-SRP Autoantibodies. The Clinical Histopathological, and Immunogenetic Feature in Japanese Patients: 73<sup>st</sup> annual meeting of American College of Rheumatology, 2009 Nov, Philadelphia
  15. 平形道人, 諏訪昭, 高田哲也, 井上有美子, 金子祐子, 桑名正隆: 多発性筋炎・皮膚筋炎 抗アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS)抗体陽性例における臨床像と免疫遺伝学的背景との関連に関する研究. 第53回 日本リウマチ学会総会, 2009年4月, 品川
- H. 知的財産権の出願・登録  
なし

膠原病に随伴する間質性肺病変に関する臨床的・実験的研究

研究分担者 土肥 眞 東京大学医学部アレルギーリウマチ科 講師

研究要旨 膠原病に随伴する間質性肺病変は、自己抗原に対する免疫応答を基盤に様々な要因が加わって形成されると考えられる。本研究では、SLE 症例における間質性病変の実態を解析し、次いで急性増悪へのウイルス感染の関与について検討した。さらに、核内自己抗原を発現するマウスを作成し、このマウスが加齢により肺に特異的な炎症と線維化を引き起こすことを見出した。

A. 研究目的

膠原病に合併する肺病変は、時として予後の規定因子となる。この中で、間質性肺炎(interstitial pneumonia: IP)と肺線維症(pulmonary fibrosis:PF)からなる間質性肺病変(interstitial lung diseases:ILD)は、膠原病自体を引き起こす自己免疫応答を基盤に、感染、薬剤、加齢などの何らかの誘因が肺に加わって形成されると考えられているが、その病態生理や機序の詳細は明らかではない。これを明らかにすることは、膠原病患者の QOL や予後を向上させる上で極めて重要な研究課題である。

本研究では、3 年間の期間の中で以下の三点に焦点を絞り検討を加えた。

1) SLE に随伴する肺病変に関する臨床的研究

SLE では従来、間質性肺炎などの肺実質病変の合併が少なく、生命予後に与える影響も比較的軽いとされている。一方で、例えば肺出血は、予後不良の病態として認識されている。さらに免疫抑制状態に伴い罹患する日和見感染症は、例え原病の病勢が落ち着いていても、時として生命予後に影響を及ぼす。初年度の調査研究として、当科に受診歴のある SLE 症例を対象に、随伴する肺病変の実態についてレトロスペクティブに検討した。

2) 膠原病に合併する急性進行性間質性肺炎へのサイトメガロウイルス感染の関与に関する研究

膠原病に合併する肺病変は、時として急性進行性

の予後不良の経過をとる場合があることが知られている。急性増悪に対する治療として、現状ではステロイド薬のパルス療法と免疫抑制薬の併用が試みられる事が多い。もし急性増悪にウイルス感染が一義的に関与しているのであれば、従来の治療法に加えて、ウイルス自体に対する治療も急性増悪に対する有効な治療法となる可能性がある。そこで、急速に進行する間質性肺炎症例を対象として、各種ウイルスに対する血清抗体価の変動を検討し、ウイルス感染あるいは潜在感染状態からの再活性化が病態に関与する可能性についての予備的検討を行った。

3) 自己抗原発現マウスにおける肺線維化自然発症についての検討

臨床症例の病態を解析する上で、動物モデルは有用な手段の一つである。膠原病に随伴する間質性肺病変(collagen vascular disease associated ILD:CVD-ILD)の動物実験モデルとしては、サイトメガロウイルス感染モデル、TNF $\alpha$ トランスジェニックマウスモデル、免疫複合体投与モデルなどが報告されている。これらのモデルでは、いずれも肺の間質に炎症細胞の浸潤を来すが、肺の線維化は誘導されず、CVD-ILD の実験モデルとしては不完全である。もし、自己免疫応答、すなわち自己抗原に対する免疫応答を基盤として線維化を起こすモデル系を作成・確立できれば、CVD-ILD の病態の解明や新規治療法の開発に極めて有用であると考えられる。そこで以前作成した、



卵白アルブミン(OVA)を自己抗原として核内に発現するマウスを用いて、肺線維症自然発症モデルの構築を試みた。

## B. 研究方法

### 第1年度：SLEに随伴する肺病変に関する研究

1996年以降、当科に受診歴を有する、診断の確実なSLE症例のうち、肺病変について解析可能であった症例を対象に、胸部単純X線写真を基本とし、これに実施が可能であった症例では胸部CT写真所見も加えて検討し、カルテの既往歴等も参照して、肺病変について検討した。画像読影は、日本呼吸器学会の専門医・指導医資格を有する呼吸器専門医が担当した。胸部単純写真あるいはCTで何らかの所見が確認され、その所見の形成に感染症の関与が明らかに否定される場合と、血管造影・肺血流シンチなどの検査で血管病変が認められる場合を所見ありと判定した。種々の所見を総合して、肺感染症による肺病変の可能性が強く疑われる場合は、解析から除外した。

倫理面への配慮：データを記録した、個人名称の記されたリストは、インターネット等に接続されていないPCに保存し、原則として常時施錠している部屋にて保管管理した。

### 第2年度：急性進行性間質性肺炎におけるサイトメガロウイルス感染の関与に関する検討

IPを呈する膠原病患者の中で、特に急速に進行する症例を選び、病変の進展時における血清中のサイトメガロウイルス(CMV)抗体価(IgG, IgM)を測定した。対象症例として、亜急性・慢性進行性のIP症例を選び、同様にCMV抗体価を測定した。一部の症例では、単純ヘルペスウイルス(HSV)に対する抗体価(IgG, IgM)も測定した。

倫理面への配慮：IP症例についての臨床的検討は、通常の臨床活動の一環として行われたものであり、本検討による患者への不利益や負担は無かった。

### 第3年度：自己抗原発現マウスにおける肺線維化自然発症についての検討

私どもは以前、全身の細胞の核内に、卵白アルブミン(OVA)を内因性の自己抗原として発現するトランスジ

ェニックマウス<Ld-nOVA>を作成した(Kawahata, 2002)。このマウスと、体内のT細胞の全てがOVA抗原に特異的なT細胞からなるマウス<DO.11.10>を交配し、核内自己抗原反応性CD4陽性T細胞を持つマウス<DBL>を作成した。このマウスでは、自己抗原反応性T細胞が制御性T細胞へ分化するため、自己抗原に対する免疫応答は惹起されなかった。一方で、recombination activating gene (RAG)の作用により遺伝子組み換えが生じ、OVA特異的T細胞が非特異的T細胞に分化することで自己反応性が回避される現象も認められた。そこで、後者の作用を取り除き、単一の抗原特異性を有する全身性自己抗原反応性T細胞の挙動を解析するため、<DBL>をRAG欠損マウスと交配した<Rag DBL>マウスを作成し、経時的に表現形を観察した。倫理面への配慮：動物実験は、東京大学動物倫理委員会の規定を遵守して実施した。検体の採取に際しては、麻酔下に可能な限り実験動物への苦痛を軽減する方法で行った。

## C. 研究結果

### 第1年度

解析可能であったのは、105症例(男性16例、女性89例、平均年齢 $47.8 \pm 15.2$ 歳(mean  $\pm$  SD)であった。SLE単独例66例は、オーバーラップ症例は39症例であった。2)原病による何らかの肺病変を有する症例は54例(51.4%)であった。内訳は(SLE単独例数/他の膠原病合併例数:全症例に対する%)で表示すると、気道病変5例(3/2:4.8%)、胸膜病変16例(7/9:15.2%)、間質性病変12例(5/7:11.4%)、肺胞出血4例(3/1:3.8%)、急性ループス肺炎1例(0/1:1.0%)、肺血栓塞栓症5例(4/1:4.8%) (重複あり)で、臨床的に明らかに問題となった肺高血圧は1例(0/1:1.0%)であった(表1)。3)SLE単独例について検討すると、所見無し43例(65.1%)、気道病変3例(4.5%)、胸膜病変7例(10.6%)、間質性病変5例(7.6%)、肺胞出血3例(4.5%)、急性ループス肺炎1例(1.5%)、肺血栓塞栓症4例(6.1%)であった。4)胸部単純写真では検出できず、CTのみで病変が検出された例は12症例(10.5%)であった(表2)。病変の内訳は、

気道病変 2 例、間質性病変 5 例、スリガラス陰影 2 例、気腫性嚢胞 2 例、索状影、小結節影各 1 例であり、いずれも限局性で、肺葉を超える拡がりを示すものは無かった。5) SSc, SJS を合併した間質性病変の中には、びまん性の肺の構造変化を来し、呼吸機能の低下や真菌感染症を併発する症例が認められた。6) 重症化し、集中治療或いはそれに準じる治療を必要とした症例は、肺胞出血 4 例、意識障害を伴う重症肺炎 2 例、急性ループス肺炎 1 例、心筋傷害 2 例、肺血栓塞栓症 3 例、肺高血圧症 1 例であった。7) 死亡例は、肺胞出血の前後に肺炎・膿胸を併発した 72 歳男性の 1 例と、肺高血圧が進行した 38 歳の男性 1 例であった。

#### 第 2 年度

検討し得た急性進行性の IP 症例は 1 例であった。症例は 76 歳の女性。2007 年 8 月に胸部 CT 上間質性病変を指摘されたが、無症状のために経過観察となった。2008 年 11 月、37 度台の微熱とともに乾性の咳が出現、多発関節痛も出現し、当科外来を紹介受診した。入院の予約待ちをしている間に呼吸困難が出現し急速に増悪したため、救急外来を受診し、室内気吸入下で PaO<sub>2</sub> が 68 Torr と低酸素血症を認めたため緊急入院となった。入院時 CT では、両側肺野に広範なスリガラス陰影と肺門部リンパ節の腫大・軽度の脾腫を認めた。多発性の関節の腫脹に加えて、血清マーカーは RF 460 (IU/ml)、MMP-3 86.8 (mg/ml) といずれも上昇し、抗 CCP 抗体も陽性 (100 U/ml) であった。鑑別診断の結果、関節リウマチ (RA) に随伴した急速進行性 IP と診断された。ステロイドパルス療法、エンドキサンパルス療法、シクロスポリンの経口投与を組み合わせた集中治療により呼吸不全は改善し、胸部 CT 上でも広範なスリガラス陰影は改善した。入院直後の検索で、CMV 抗体価の測定の結果、IgG の上昇 (29.6) に加えて、IgM も 3.02 と上昇しており、新たな感染の可能性が疑われた。さらに、単純ヘルペスウイルスに対する抗体価も、IgG 56.1, IgM 6.29 といずれも上昇していた。一方で、対照とした RA に合併した亜急性進行型の IP の症例 (58 歳、女性) では、CMV-IgM の上昇は認められなかった。同様に、慢性進行性の経過をたどる、SSc に合併する

IP 2 症例 (67 歳女性と 77 歳女性) でも、CMV-IgM の上昇は認められなかった。

#### 第 3 年度

<Rag DBL> マウスでは T 細胞の 90% 以上が CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> の制御性 T 細胞へと分化しており、自己 OVA 抗原に対して免疫寛容が成立していると考えられた。このために、<Rag DBL> マウスは生下時にはどの臓器にも明らかな異常は認められなかった。一方で、このマウスを無処置で飼育すると、4~6 週齢までは正常だが、約 12 週齢を過ぎると肺に好中球の浸潤と軽度の線維化が認められ始めた。さらに経過を観察すると、好中球浸潤と線維化病変は経時的に進展増悪した。病変は肺にのみ生じ、脾臓、膵臓、腸管などの他の組織には見られなかった。気管支肺胞洗浄液 (BALF) の解析では、好中球が優位で一部リンパ球も含む炎症性細胞の増加が認められた。同一条件下で飼育した <Rag-DO11.10> マウスでも、20 週齢を過ぎると、肺に炎症細胞の浸潤を認めるようになった。これらの結果の再現性も確認された。

#### D. 考察

1) 軽微な病変も含めれば、SLE の経過中に、原病に関係する何らかの肺病変が随伴する頻度は半数近くにのぼる。CT 撮影が施行される頻度が高くなる程 (今回施行例は 54 例、51.4%)、微細な病変が検出される頻度も高まると予測される。2) 明らかな他の膠原病の合併が無くとも画像上肺病変が検出される SLE 単独例も存在した。その内訳は多様であったが、いずれも所見の範囲や程度は軽微であった。これらの病変については、他の膠原病の潜在的な合併や加齢に伴う変化の可能性も否定できない。3) 重篤な事態を招きうる病変としては、肺胞出血、肺血栓塞栓症、心筋炎による呼吸循環不全、意識障害を伴う重症感染症、ループス肺炎、進行性の肺高血圧が考えられた。以上より、SLE に随伴する肺病変はある程度の頻度で存在するが、その多くは軽微であり、幾つかの重篤な病態を除けば、生命予後を規定するものは少ないと考えられる。一方で、びまん性の間質性肺病変を来す他の膠原病が合併すると、病変の程度が



強くなり、予後に影響を与える可能性が出て来る。この場合には、間質性肺病変、特に間質性肺炎・肺線維症の進展をいかに抑制するかが重要となる。

2) 検討症例は、RA の活動性の上昇とともに、既存の IP が急速に増悪・進行した症例である。強力な免疫抑制療法を施行した結果、呼吸不全から脱却し、救命しえた。諸検査・鑑別診断の結果、薬剤性肺炎や細菌性肺炎の可能性は否定され、IP は原病に伴うものと考えられた。一方で、血清 CMV-IgM 抗体価が上昇しており、CMV の初感染が疑われた。本症例では、ウイルス抗体価の上昇とともに、発熱や肺門リンパ節腫脹・脾腫が認められた。一般に、成人の初感染の CMV 感染では、発熱・リンパ節腫脹・脾腫を伴い、EB ウイルスの感染に類似の病像を示すことが知られており、本症例に見られた所見と合致する。対照とした、RA に合併した亜急性進行型の IP では CMV-IgM の上昇は認められず、SSc に合併した亜急性・慢性進行性の IP 2 例でも上昇は見られなかった。以上より、RA 原病に起因して急性進行性 IP を呈した症例のみで、CMV 感染の合併が認められた事は、急性進行性の病態の誘因として CMV 感染が関与する可能性を示唆している。従って、今後同様の症例数を増やして検討する価値があると考えられた。一方で、CMV 抗体価は rheumatoid factor と交差反応を示す可能性も指摘されている。本症例では、IgM 抗体価の上昇に伴い、発熱や肺門リンパ節腫脹・脾腫も認められており、臨床的にもウイルス感染が強く示唆される。今後の検討においても、単に抗体価の上昇のみでなく、臨床的背景も考慮しながら検討を進める必要があると考えられた。

3) <Rag DBL>マウスでは 6 週齢では見られず、12 週齢前後から肺に好中球性炎症と線維化が認められ始め、20 週齢では進行していた。この結果は、「内因性抗原とそれに本来は反応しうる T 細胞を持つマウスが週齢を重ねたことにより好中球性炎症と線維化が生じた」と解釈できる。そこで発表者らは「生下時には成立している、自己抗原に対する免疫寛容が、加齢に伴う何らかの内因性或いは外因性の要因により破綻して免疫応答が引き起こされ、その結果、肺

に炎症と線維化が生じた」と考えた。本検討では、病変肺ではリンパ球ではなくむしろ好中球優位の炎症が惹起された。このことは必ずしも本検討で見られた病態へのリンパ球を中心とする免疫応答の関与が低いことを意味するわけではない。例えば、インターロイキン(IL)-17 のような好中球優位の炎症を惹起する因子がリンパ球から産生されれば、リンパ球の数自体は少なくとも、好中球優位の炎症が引き起こされることは十分ありうる。本研究においても、予備実験の段階ではあるが、<Rag DBL>マウスにおいては CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>の制御性 T 細胞が IL-17 を産生することを確認している。しかし一方で、時間が経つにつれて 20 週齢では <DBL>マウスと <Rag-D011.10>においても程度は弱いものの同様の炎症が惹起された。従って、この病変形成過程の一部は核内自己抗原の発現と無関係である可能性が示唆され、感染などの、どの系統のマウスにも共通した要因が関与している可能性も考えられる。<Rag DBL>マウスを、膠原病に随伴する間質性肺病変のモデルマウスであると認定するためには今後、上述した両者の可能性について検討する必要があると考えられる。

#### E. 結論

1) SLE に随伴する肺病変の多くは、程度が軽く生命予後を規定しない。しかし、肺胞出血や重症心筋障害による呼吸循環不全などは、頻度は低いが、生命予後に直結する。他の膠原病が合併する症例では、間質性肺炎・肺線維症が進展・増悪して予後に影響する場合があります、この病態に対する治療法の進歩が望まれる。

2) 膠原病に随伴する間質性肺炎の急性進行例で、同時にサイトメガロウイルス(CMV)の初感染を示唆する症例を経験した。急性進行性の IP の背景・誘因としての CMV 感染の可能性について、今後も検討する必要があると考えられた。

3) <Rag DBL>マウスは、自己抗原の発現を背景とし、加齢により肺線維化を発症した。一方で、非特異的な感染による影響も否定できず、今後さらなる検討が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

第一年度から第三年度を通じて特に無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

Okunishi K, Dohi M, and Yamamoto K. Hepatocyte growth factor significantly suppresses collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol* 179:5504-5513, 2007.

Imamura M, Okunishi K, et al. and Dohi M. Pravastatin attenuates allergic airway inflammation by suppressing antigen-sensitization, IL-17 production, and antigen-presentation in the lung. *Thorax* 64:44-49, 2009.

Kawahata K, Yamaguchi M, Kanda H, et al. Severe airflow limitation in two patients with systemic lupus erythematosus: effect of inhalation of anticholinergics. *Mod Rheumatol* 18:52-56, 2008.

Tokuda H, Sakai F, Yamada H, et al. Clinical and radiological features of *Pneumocystis pneumonia* in patients with rheumatoid arthritis, in comparison with methotrexate pneumonitis and *Pneumocystis pneumonia* in acquired immunodeficiency syndrome: a multicenter study. *Intern Med* 47:915-923, 2008.

Nakagome K, Okunishi K, et al., and Dohi M. IFN- $\gamma$  attenuates Ag-induced overall immune response in the airway as a Th1-type immune-regulatory cytokine. *J Immunol*: 183:209-220, 2009

Harada H, Imamura M, et al., and Dohi M. Up-regulation of lung dendritic cell functions in elastase-induced emphysema. *Int Arch Allergy*

*Immunol*:149 :25-30,2009.

Okunishi K, Sasaki O, et al. and Dohi M.

Intratracheal delivery of hepatocyte growth factor directly attenuates allergic airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol*:149 :14-20,2009.

2. 学会発表

Okunishi K, Dohi M, Fujio K, Nakagome K, Shibuya M, Yamamoto K. Hepatocyte growth factor suppresses antigen-induced immune responses with modulation of dendritic cell function and without induction of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. Proceedings of the Japanese Society for Immunology (日本免疫学会総会学術集会記録) 2007. p235.

土肥眞：関節リウマチに伴う進行性間質性肺炎の一例。第170回東京内科医会臨床研究会。2008、東京

中込一之、土肥眞、奥西勝秀、他：抗原全身感作前のIL-5遺伝子導入は、OVA抗原特異的アレルギー性気道炎症を抑制しうる。日本呼吸器学会。2008、神戸。

今村充、土肥眞、奥西勝秀、他：マウス喘息モデルにおけるpravastatinの効果についての検討。日本呼吸器学会。2008、神戸。

松本拓、土肥眞、中込一之、他：アレルギー性鼻炎マウスモデルに対するenhanced pause (Penh)を用いた鼻過敏性変化の再検討。第58回日本アレルギー学会。2008、東京。

中込一之、土肥眞、奥西勝秀、他：気管支喘息モデルにおける、IFN- $\gamma$ 遺伝子導入による好酸球性気道炎症の抑制効果。第58回日本アレルギー学会。2008、東京。

佐々木欧、土肥眞、奥西勝秀、他：HGF・ゼラチンハイドロゲル複合体の気管内投与によるアレルギー性気道炎症抑制効果に関する実験的検討。

第58回日本アレルギー学会。2008、東京。



土肥眞：膠原病の肺病変。第 59 回日本アレルギー学会イブニングセミナー。2009, 秋田（抄録集 p1193）。

松本拓、土肥 眞、中込一之、他：Simvastatin はアレルギー性鼻炎モデルにおける抗原誘発反応を抑制する。第 59 回日本アレルギー学会。2009, 秋田（抄録集 p1222）

今村充、土肥眞、奥西勝秀、他：アレルギー性気道炎症におけるイソプレノイドの効果。第 59 回日本アレルギー学会。2009, 秋田（抄録集 p1250）。

中込一之、土肥眞、奥西勝秀：気管支喘息モデルにおける、IFN- $\gamma$ 遺伝子導入による好酸球性気道炎症の抑制機序について。第 59 回日本アレルギー学会。2009, 秋田（抄録集 p1290）。

#### H. 知的財産権の出願・登録

第一年度から第三年度を通じて特に無し。

表1 SLEに随伴する肺病変の内訳

	SLE 単独例	合併例	合計(全症例に対する%)
気道病変	3	2	5 (4.8%)
胸膜病変	7	9	16 (15.2%)
間質性肺炎5	7		12 (11.4%)
急性ループス肺炎	1	0	1 (1.0%)
肺胞出血	3	1	4 (3.8%)
肺血栓塞栓症	4	1	5 (4.8%)
重症肺高血圧	0	1	1 (1.0%)

表2 CT 撮影の施行によりはじめて検出が可能であった病変の内訳

間質性肺病変	5
スリガラス陰影	2
気腫性嚢胞2	
気道病変	2
索状影	1
小結節影	1
陳旧性炎症像	1
合計	12 例

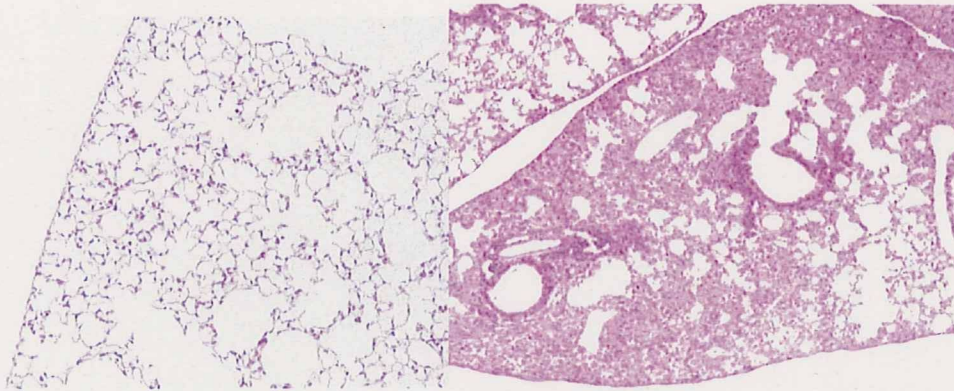


図1 <Rag DBL>マウスにおける肺線維化の発症。

上段:8 週齢

下段:20 週齢



強皮症肺およびリウマチ肺における線維化に関わる因子に関する研究

研究分担者 吉澤靖之 東京医科歯科大学 理事 (H19・20)

研究分担者 稲瀬直彦 東京医科歯科大学大学統合呼吸器病学 教授 (H21)

研究要旨 間質性肺炎は、膠原病において予後を規定する重要な合併症の一つであるが、その病態は不明な点が多い。IL-6 は正常肺線維芽細胞に対しては、アポトーシスを促進する働きをするが、特発性肺線維症患者肺線維芽細胞においてアポトーシスを抑制するように働く事が報告されている。そこで関節リウマチ (RA) に伴う間質性肺炎の血清、BALF 中の IL-6、IL-6 受容体および gp130 値の比較検討をした。BALF 中 gp130 と肺活量(%VC)間に相関関係があり、IL-6 の水溶性受容体 gp130 が病態に関与が示唆された。次に強皮症 (SSc) に伴う間質性肺炎の肺線維化の過程に関わる重要な蛋白を明らかにするために、SSc fib-群 4 例と SSc fib+群 5 例の気管支肺胞洗浄液中の蛋白発現を、2次元電気泳動と質量分析を用いてプロテオーム解析を行った。surfactant protein A (SP-A)、 $\alpha$ 2-macroglobin、 $\alpha$ 1-antitrypsin は SSc fib+で有意に発現が亢進し、glutathione S-transferase (GST)、 $\alpha$ 2-heat shock protein (HSP) は SSc fib+で有意に発現が低下していた。SP-A に関しては 5 つの isoform を認め、質量最小の isoform1 において有意差を認めた。今後 SP-A の isoform1 の解析や翻訳後修飾の検討が必要である。

A. 研究目的

関節リウマチ (RA) あるいは強皮症 (SSc) に伴う間質性肺炎の肺線維化の過程に関わる重要な蛋白の候補を同定するのが本研究の主目的である。間質性肺炎は、膠原病において予後を規定する重要な合併症の一つである。しかしながら、その病態は不明な点が多い。本研究を進めることにより、これらの疑問が解明され、間質性肺炎を伴う膠原病患者の予後が改善することが期待される。

IL-6 と肺線維化に関していくつか報告されている。Knight らが、正常ヒト培養肺線維芽細胞 (normal-Fb) と IPF 患者培養肺線維芽細胞 (IPF-Fb) の比較で報告している。normal-Fb において IL-6 は、STAT-3 活性化と、cyclin-dependent kinase inhibitor p19 の産生により、normal-Fb の増殖を阻止する。STAT-3 活性化により、Bax (proapoptotic protein) を発現、Fas-induced apoptosis を促進する。一方、IPF-Fb においては、PD98059 (ERK) の活性化、p27<sup>kip1</sup> の産生障害、cyclinD1 の活性化により、IPF-Fb を増

殖させ、STAT-3 活性化により、Bcl-2 (antiapoptotic molecule) を発現、Fas-induced apoptosis を阻害する。すなわち、normal-Fb においては、apoptosis の promoter になるが、IPF-Fb においては、antiapoptotic に働くと考えられる。膠原病肺の BALF 中の IL-6 の検討はほとんど行われていないが、BALF 中の IL-6、IL-6R、gp130 の発現を検討する事でさらなる肺線維化と IL-6 の関係についての評価を行うことが可能と考えられる。そこで、RA に伴う間質性肺炎 (RA-ILD) と、SSc に伴う間質性肺炎 (SSc-ILD) の両群で、血清、BALF 中の IL-6、IL-6 受容体および gp130 値の比較検討をし、両群の病態に関する IL-6、IL-6 R、gp130 の関与を検討する。肺病変先行型 RA-ILD と、通常型 RA-ILD における IL-6、IL-6 受容体および gp130 の検討を行い、病態の相違を検討する。

間質性肺炎は、膠原病において予後を規定する重要な合併症の一つである。肺病変と膠原病の関連性は指摘されているにも関わらず、この疾患において

間質性肺炎が発症するメカニズムは明らかになっていない。一方、II型肺胞上皮細胞や呼吸細気管支上皮細胞表面に発現するムチン蛋白であるKL-6、およびII型肺胞上皮やクララ細胞から分泌される肺コレクチンに属するサーファクタント蛋白であるSP-Dは間質性肺炎の血清マーカーとして有用性・信頼度が高いとされているが、これらのマーカーは必ずしも病態を反映しない。

そこで、我々は気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の蛋白発現をプロテオミクス解析し網羅的に比較検討し、膠原病に伴う間質性肺炎の肺線維化の過程に関わる重要な蛋白の候補を探索する。

呼吸器科医は日常的に気管支鏡を行っており、気管支肺胞洗浄も慣れた手技である。間質性肺疾患の補助診断あるいは研究対象として気管支肺胞洗浄液 (BALF) の液性成分の解析がしばしば行われる。BALFのプロテオーム解析はこの10年で技術的な進歩とともに多くの研究成果をあげている。特に間質性肺炎の分野では従来難しかった低発現の蛋白も検出できるようになってきている。それらの技術な進歩をふまえて間質性肺炎を合併しない強皮症あるいは関節リウマチ患者と間質性肺炎を合併する強皮症あるいは関節リウマチ (RA) 患者の間で、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の蛋白発現をプロテオミクス解析し網羅的に比較検討することで、膠原病に伴う間質性肺炎の肺線維化の過程に関わる重要な蛋白の候補を同定し、さらには遺伝子学的検討まで踏み込んで研究を進める。

## B. 研究方法

RAに伴う間質性肺炎 (RA-ILD) およびSScに伴う間質性肺炎 (SSc-ILD) の両群で、HRCT画像を2名の呼吸器専門医により、以下の各項目で評価を行い、血清、BALF中のIL-6、IL-6受容体、およびgp130値との相関関係を解析する。VATS症例に関しても、各病理 pattern (UIP、fNSIP、cNSIP、OP) 間での血清、BALF中のIL-6、IL-6受容体、およびgp130値の比較解析を行う。(HRCT評価項目; GGOs、consolidation、nodules、interlobular septal

thickening、thickening of BVB、Honeycombing、emphysema、cysts、thickening of pleura、mosaic pattern、architectural distortion、traction bronchiectasis)

プロテオーム解析については、当科で2004年より2008年の間に経験したSSc fib-群4例とSSc fib+群5例のBALF中の蛋白発現を、two-dimensional gel electrophoresis (2-DE)、matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

医学倫理に対する配慮の概要; 研究対象となる群に対して、インフォームド・コンセントに基づき、説明書を用い、研究方法、危険性、研究結果の取り扱い等について説明、同意を得た。

## C. 研究結果

平成19年度

①RA-ILD群とSSc-ILD群の比較では、KL-6、SP-Dおよび肺機能の有意差は認めなかったが、RA-ILD群でSSc-ILD群と比較し、血清IL-6 R値が有意に高値を示した ( $p=0.0006$ )。

②肺病変先行型と通常型RA-ILDの比較にて、KL-6、SP-Dおよび肺機能の有意差は認めなかった。また、血清およびBALF中IL-6、IL-6 Rおよびgp130値の有意差も認められなかった。

③BALF中gp130と肺活量 (%VC) 間に正の相関関係が認められた (相関関数 0.504、 $p=0.0381$ ) (表1)。

平成20-21年度

①患者背景を表2に示す。間質性肺炎のマーカーとして知られるKL-6がSSc fib+群で有意に高値であった。

②2-DEの結果10.1kDaから123.0kDaまでの間に432のspotが認められ、SSc fib+群の発現量がSSc fib-群の1.5倍以上、もしくは0.67倍以下であった蛋白を16種類同定した。

③SSc fib+群の発現量がSSc fib-群の1.5倍以上の



蛋白は $\alpha$ -2-macroglobulin, transferrin,  $\alpha$ -2-antiplasmin,  $\alpha$ -1-antitrypsin, immunoglobulin heavy chain  $\gamma$ , surfactant protein A, toll-like receptorの7種類であり、0.67倍以下であった蛋白は、immunoglobulin heavy chain  $\alpha$ , L-FABP, immunoglobulin J chain  $\alpha$ -1 antichymotrypsin, haptoglobin heavy chain  $\alpha$ ,  $\alpha$ -2HS glycoprotein (HSP), hemopexin, glutathione S-transferase (GST)の9種類であった。その内、SP-A、 $\alpha$ -1-antitrypsin、 $\alpha$ -2-macroglobulin、HSP、GSTにおいて有意差を認めた(表3)。

④ SP-A領域に5つの isoform を認めた。質量が低いものから isoform 1 とし、質量が増えるにつれ isoform 5 まで番号をふると、isoform 1 において SSc fib+群と SSc fib-群の間に有意差を認めた (spot quantity values: SSc fib+;  $25.5 \pm 6.6$  vs SSc fib-;  $5.9 \pm 3.1$ ,  $p < 0.05$ ) (表4)。

#### D. 考察

IL-6 は、①IL-6R、STAT-3 を介するシグナル伝達経路および②SHP2/GAB/PI3K/MAPK を介するシグナル伝達経路を活性化する。②の経路は①の経路を抑制し、①の伝達経路が抗体産生、B細胞分化等に関係する。RA-ILD群と SSc-ILD群の両群にて、健常者群と比較し IL-6 の上昇を認めることより、肺線維化の共通のメカニズムに IL-6 が関与している可能性がある。

また、IL-6R には細胞膜上に発現している膜型 IL-6 R と、血中、体液中に存在する可溶性 IL-6 R が存在する。①の経路では、IL-6 が、細胞内刺激伝達系を持たない IL-6R と特異的に結合し、IL-6/IL-6R complex を形成し、その複合体は、細胞内に刺激を伝える gp130 と会合すると、gp130 の homodimer の形成を誘導。JAK s (Janus kinase family) が活性化され、gp130 のチロシン残基がリン酸化される<sup>49)</sup>。RA-ILD群で SSc-ILD と比較し、IL-6 R の有意な上昇を認めていることより、IL-6 R の RA-ILD群に対するより強い関与が示唆される。

RA-ILD群と SSc-ILD群の両群において、soluble gp130 は、健常群と比較し低値であり、表1に示すように、BALF 中 gp130 と肺活量 (%VC) に正の相関を認めたことより、RA と SSc の肺病変に gp130 が関与していることが示唆される。一方、SP-A は、肺胞 II 型上皮細胞で産生される肺サーファクタントの構成成分であり、肺胞腔内のリン脂質を一定量に保ち、気道感染に対する自然免疫作用を持つ。近年、家族内発生した IPF 家系に対する連鎖解析により、SP-A2 の遺伝子の変異が報告された。構造異常を起こした SP-A が粗面小胞体に蓄積し、その小胞体ストレスにより細胞毒性を生じ、間質性肺炎を発症すると考えられている。BALF 蛋白を 2-DE に展開すると、様々な SP-A isoform として観察され、これはアセチル化、proline の水酸化、糖化、シアリル化、カルボキシル化などの翻訳後修飾によるものと考えられている。cystic fibrosis の検討では isoform 1 にて hydroxy-proline の付加や methionine の酸化などの翻訳後修飾が起こり、surfactant の恒常性を不安定にしていると言われている。そのほかにも COPD や肺胞蛋白症における SP-A isoform の研究も見られる。本研究では SP-A の翻訳後修飾に関して検討していないが、MALDI-TOF-MS を行うことでどのような翻訳後修飾が起こっているのか確認できる可能性がある。

GST は脂質過酸化反応の際に発生し抗酸化作用を持つ蛋白である。SSc fib+群で GST が低下していることから、抗酸化剤である N-アセチルシステイン吸入療法が有効である可能性がある。

HSP は様々なストレスで傷害を受け構造異常を起こした蛋白の修復、並びに蛋白の合成、運搬、分解に関与する生体防御蛋白である。肺傷害に対する防御機能の低下が肺線維化に関わっている可能性がある。

このように、間質性肺炎合併の病態として、以前より言われていた慢性持続性炎症、酸化ストレスによる肺障害が示唆され、また SP-A の isoform 1 の増加が関与している可能性がある。

## E. 結論

RA と SSc の、肺線維化の共通のメカニズムに IL-6 が関与している可能性がある。RA と SSc の肺病変の形成に gp130 が関与していることが示唆される。

SSc fib+ と SSc fib- の間で発現量の異なる蛋白が明らかにされた。さらに多数の症例検討し、強皮症に伴う間質性肺炎の線維化の過程における重要な蛋白の同定を進める必要がある。また、SSc fib+ 群では、SP-A の isoform 1 の解析や翻訳後修飾の検討が必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Yoshizawa Y et al, 1999. Chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan: a national wide epidemiologic survey., J Allergy Clin Immunol 103:315-320
2. Ohtani Y et al, 2003. Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung., Ann Allergy Asthma Immunol 90:604-610.
3. Ohtani Y et al, 2005. Chronic bird fancier's lung: histopathological and clinical correlation. An application of the 2002 ATS/ERS consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonia. Thorax 60:665-671
4. Kondoh K et al. 2006. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine gene polymorphisms in hypersensitivity pneumonitis., J Med Dent Sci 53:75-83
5. 宮崎泰成ら、2006. 慢性鳥飼病における急性増悪の病態に関する検討-Th1/2*γ* T<sub>H</sub>17 細胞の役割について-びまん性肺疾患に関する調査研究班 平成17年度研究報告書 78-83
6. M. Kishi et al 2008. Pathogenesis of cBFL i

n common with IPF? correlation of IP-10/TARC ratio with histological patients., Thorax. 63:810-6

## 8. 学会発表

- ・平成20年度 厚生労働省 免疫アレルギー疾患予防、治験研究事業 合同研究発表会 「間質性肺炎合併強皮症の気管支肺胞洗浄液におけるプロテオミクス解析」
- ・平成21年度 厚生労働省 免疫アレルギー疾患予防、治験研究事業 合同研究発表会 「間質性肺炎合併強皮症の気管支肺胞洗浄液におけるプロテオミクス解析」
- ・American Thoracic Society 2009 SAN DIEGO (2009.5.19) 「Proteome analysis of bronchoalveolar lavage fluid in SSc-ILD」
- ・第49回日本呼吸器病学会学術講演会 (2009.6.12) 「間質性肺炎合併強皮症の気管支肺胞洗浄液におけるプロテオミクス解析」

## H. 知的財産権の出願・登録

なし



表1. RA-ILDにおけるIL-6, IL-6およびreceptor, gp130と%肺活量(%VC)の相関

	Serum	BALF
IL-6	-0.081	-0.288
IL-6 R	-0.112	-0.005
Soluble gp130 *	0.239	0.504

\* p<0.05

表2 患者背景

Parameter	SSc fib-	SSc fib+	P value
number	4	5	-
age	63.5±4.5	63.4±2.0	0.981
male/female	2/2	2/3	-
pack year	9.0±9.0	12.2±7.6	0.792
CRP (mg/dl)	0.2±0.1	0.6±0.3	0.323
LDH (IU/l)	208.2±22.0	228.2±24.9	0.570
ANA	546.7±375.5	304.0±96.0	0.453
Scl-70	1.3±1.3	15.8±12.1	0.405
KL-6 (U/ml)	561.3±257.5	1459.4±197.4	0.028
SP-D (ng/ml)	135.0±85.4	215.7±62.9	0.220
SP-A (ng/ml)	58.2±21.6	93.9±36.7	0.512
%VC (%)	96.2±13.1	73.1±4.7	0.111
%FEV1.0 (%)	82.7±1.1	81.2±1.3	0.448
%DLco (%)	67.8±12.0	56.9±8.4	0.473

表3 SSc Fib+とSSc fib-の間で発現に有意差を認めた蛋白

Protein	MW (kDa)	Spot quantity values of SSc fib+	Spot quantity values of SSc fib-	P value
α1 antitrypsin	46.9	18.2±6.1	4.1±1.8	0.048
Surfactant protein A	26.7	25.5±6.6	5.9±3.1	0.024
α2 macroglobulin	207.4	6.3±1.6	1.2±1.0	0.034
α2 HS glycoprotein	13.6	0.0±0.0	6.2±3.6	0.045
Glutathione S-transferase	25.8	6.0±4.5	64.6±22.3	0.037

Spot quantity values: Measured on two BALF gel maps of individual SSc-ILD and SSc patients by software Progenesis PG220 Nonlinear. Result was shown as mean ± SEM, P values. All data was assessed by Mann-Whitney method.

表4 SP-A isoform

Isoform number	SSc fib-	SSc fib+	P value
1	7.4±3.2	29.2±6.3	<0.05
2	4.0±2.6	8.4±8.4	0.25
3	0.8±0.7	1.4±0.8	0.59
4	1.6±1.5	0.6±0.6	0.31
5	1.5±1.5	0.5±0.4	0.5

## 皮膚筋炎／多発性筋炎に伴う急速進行性間質性肺炎の治療に関する研究

研究分担者 亀田秀人 慶応義塾大学医学部内科学教室リウマチ内科 講師

研究要旨 皮膚筋炎 (DM)／多発性筋炎 (PM)、特に筋炎所見の軽微な clinically amyopathic DM (c-ADM) に合併しやすく、(亜)急性の経過で進行する急速進行型間質性肺炎 (rapidly progressive interstitial pneumonia; RPIP) はステロイドを中心とした治療に抵抗性で高率に致命的である。1985 年 8 月から 2000 年 11 月までに診断された RPIP 合併 PM/DM は 12 例で、うち 9 例が数ヶ月以内に呼吸不全で死亡した。2000 年 12 月から 2002 年 12 月までに診断した 10 例では、半数の 5 例がステロイド＋シクロスポリン A (CsA)＋シクロホスファミドパルス静注療法 (IVCY) で改善したが、残りの 5 例は救命しえなかった。2003 年以降では 19 例を診断し、様々な併用を試みるも、IVCY のみ併用 2 例の他、タクロリムス投与 7 例中 4 例、リツキシマブ投与 2 例中 1 例、エタネルセプト投与 4 例中 1 例の計 8 例 (42%) が救命しえず、ステロイドに単剤を併用する有用性はいずれも不十分であった。しかし、免疫抑制薬の積極的併用に伴うステロイドの早期減量によって、RPIP の治療成績が経年的に向上したのみならず、感染症による死亡がほとんどなくなり、DM/PM の生命予後の向上にもつながった。従って、RPIP 合併 DM/PM 症例においては、造血器悪性腫瘍などに対する多剤併用化学療法と同様の考え方で積極的治療に望むべきであり、現時点ではステロイド＋CsA＋IVCY の併用療法を基軸として不応例に他剤を追加併用する治療戦略が最善と考えられた。

### A. 研究目的

皮膚筋炎 (DM)／多発性筋炎 (PM)、特に筋炎所見の軽微な clinically amyopathic DM (c-ADM) に合併しやすく、(亜)急性の経過で進行する急速進行型間質性肺炎 (rapidly progressive interstitial pneumonia; RPIP) は、ステロイドを中心とした治療に抵抗性で高率に致命的であることが知られている。本研究では RPIP の臨床・胸部画像的特徴を明らかにし、早期同定に役立つとともに、発症・診断時より積極的に複数の免疫抑制薬併用や生物学的製剤をはじめとした新規治療薬を用いることで治療成績を向上させ、ひいてはその治療指針を策定することを目的とした。

### B. 研究方法

RPIP の診断は(亜)急性に進行する臨床経過と HRCT 画像所見 (組織診断として DAD/fibrotic NSIP が予想される所見) に拠り、ステロイドを含む治療後に速やかな

陰影の改善を認めないことで再確認した。まず 1985 年 8 月から 2000 年 11 月にまでには診療録を調べると、RPIP 合併 PM/DM が 12 例認められ、うち 9 例が数ヶ月以内に死亡していた。そこで 2000 年 12 月から 2002 年 12 月までは、RPIP 合併 PM/DM には全例に診断時より大量ステロイドにシクロスポリン (CsA) とシクロホスファミドパルス静注療法 (IVCY) を併用した。その治療成績をふまえて、2003 年以降は CsA の代わりにタクロリムス、IVCY の 1 回投与量を 1000 mg から 2000 mg へ倍増、または投与間隔を 4 週毎から 2 週毎への短縮、IVCY に替えて rituximab の投与、そしてステロイド＋CsA＋IVCY に TNF 阻害薬の併用等も試みた。

(倫理面への配慮)

DM/PM に対してはステロイドのみが保険適応となっており、免疫抑制薬などは広く使用されていても適応外使用であるため、投与開始前に十分な説明を行い、



同意を得てから投与した。

### C. 研究結果

2000年12月から2002年12月までに診断したRPIP合併PM/DM10例のうち、5例がステロイド+CsA+IVCYで改善したが、残りの5例はやはりRPIPの進行による呼吸不全で3ヶ月以内に死亡した。2003年以降ではこれまでに19例を診断した。内訳は男性が11例と多く、病型もC-ADMが8例とDMが9例、PMは僅か2例であった。VATSによる肺生検は5例で行われ、全例non-specific interstitial pneumonia (NSIPが主体と診断され、一方、剖検3例はいずれもdiffuse alveolar damage (DAD)であった。様々な併用を試みるも、IVCYのみの2例の他、タクロリムス投与のべ7例中4例、リツキシマブ投与2例中1例、エタネルセプト投与4例中1例がRPIPの進行による呼吸不全で短期間に死亡しており、ステロイドに単剤を併用する有用性はいずれも不十分であった。特に、2003-2006年では12例中7例が死亡しており、ステロイド+CsA+IVCYの併用療法の成績を他の治療が上回ることはなかった。そこで2007年以降はステロイド+CsA+IVCYの併用療法を全例に最初から行う方針に戻し、反応性不十分ならエタネルセプトやメシル酸イマチニブなどの他剤を追加併用する治療戦略としたところ、7例中6例が軽快した。

また、患者全体におけるRPIP合併患者の位置づけを明らかにするために、今年度(平成21年度)は2004-2008年の5年間に当科で初回治療を行ったDM44例/PM29例の計73例(男性28例、女性45例で、年齢は17-80歳、中央値57歳、観察期間は1-101ヶ月、中央値19ヶ月)を対象とした検討を行った。臨床的にRPIPと考えられた18例を含む42例(57.5%)に間質性肺炎を認めた。組織診断は11例で試行され、剖検の3例はすべてDAD、VATSはNSIP3例、DADとLIPが各1例、TBLBの3例ではNSIPが示唆された。治療として免疫抑制薬は初回治療からの23例(54.8%)を含む32例(76.2%)に投与されており、21例に2剤以上(主にシクロスポリンとシクロホスファミドの併用)が使用された。生物学的製剤の使用は7例であった。RPIPと臨床的に関連したのはpalmar papuleの存在であり、HRCT画像

所見としては胸膜直下の多発性浸潤影

(consolidation)とそれに引き続くスリガラス陰影が特徴であった。また、死亡例の臨床病型はC-ADMが3例、DMとPMが各2例であった。C-ADMを含めてDM/PMの生命予後は2002年以前と比較して改善しており、感染症による死亡は1例のみで、他の死因はRPIPか悪性腫瘍のいずれかであった。

### D. 考察

DM/PMの生命予後は間質性肺炎、特にRPIPの有無に大きく左右される。この一群は臨床病型としてC-ADM、臨床症状としてpalmar papule、そしてHRCT画像所見として胸膜直下のconsolidationとスリガラス陰影が特徴であった。これまでの症例蓄積からRPIP合併PM/DM症例に対するステロイドの有効性は期待できず、初期の大量療法後は、感染リスク軽減を重視して早めの減量を心がけるべきであると考えられた。また、ステロイドに単独の免疫抑制薬や生物学的製剤を併用する有用性は低く、また死亡例は臨床上または剖検上、全例が原疾患によると判断されたことから、併用による副作用リスクは原疾患のリスクより明らかに低く、早期からの積極的併用療法を支持する結果であった。また、線維化に対する治療薬としてメシル酸イマチニブの投与も選択肢の1つであると考えられた。

### E. 結論

DM/PMの治療・管理において、予後の推定や向上に進歩が見られた。予後不良なRPIPに対しては、従来のステロイドを中心とした免疫抑制薬の追加併用方式とは異なる、悪性腫瘍に対する多剤併用化学療法と同様の考え方で治療に臨む必要がある。その治療レジユメの確立は今後の課題として残されたが、現時点ではステロイド+CsA+IVCYの併用療法を基軸として不応例に他剤を追加併用する治療戦略が最善と考えられた。

### F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kameda H. Lung disease in EBV infection. ed. by Michaela Bilic. Encyclopedia of Molecular mechanisms of Diseases. Springer, Heidelberg (in press).
- 2) 亀田秀人. 多発性筋炎(皮膚筋炎). 山口徹、北原光夫、福井次矢 編集. 今日の治療指針. 医学書院, 東京, 610-12, 2009.
- 3) Kameda H, Okuyama A, Tamaru J-I, Itoyama S, Iizuka A, Takeuchi T. Lymphomatoid granulomatosis and diffuse alveolar damage associated with methotrexate therapy in a patient with rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol 2007;26(9):1585-1589.
- 4) Kameda H, Suzuki M, Takeuchi T. Platelet-derived growth factor as a therapeutic target for systemic autoimmune diseases. Drug Target Insights 2007;2:239-247.
- 5) Takizawa Y, Inokuma S, Tanaka Y, Saito K, Atsumi T, Kameda H, Hirohata S, Kondo H, Kumagai S, Tanaka Y. Clinical characteristics of cytomegalovirus infection in rheumatic diseases: multicentre survey in a large patient population. Rheumatology 2008;47:1373-1378.
- 6) Suzuki K, Nagasawa H, Kameda H, Amano K, Kondo T, Itoyama S, Tanaka Y, Takeuchi T. Severe acute thrombotic exacerbation in two cases with anti-phospholipid syndrome after retreatment with rituximab in phase I/II clinical trial for refractory systemic lupus erythematosus. Rheumatology 2009;48:198-199.
- 7) Suzuki K, Kameda H, Amano K, Nagasawa H, Takei H, Sekiguchi N, Nishi E, Ogawa H, Tsuzaka K, Takeuchi T. Single center prospective study of tacrolimus efficacy and safety in treatment of rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 2009;29:431-436.
- 8) Ogawa H, Kameda H, Amano K, Takeuchi T. Efficacy and safety of cyclosporine A in patients with refractory systemic lupus erythematosus in a daily clinical practice. Lupus (in press).
- 9) Suzuki K, Kameda H, Amano K, Nagasawa H, Takei H, Nishi E, Okuyama A, Tsuzaka K, Takeuchi T: Single center prospective study of tacrolimus efficacy and safety in treatment of various manifestations in systemic lupus erythematosus. Rheumatology Int (in press).
- 10) 亀田秀人, 武井博文. 皮膚筋炎による間質性肺炎. 分子リウマチ 2007;3(4):22-27.
- 11) 亀田秀人, 竹内勤. 自己免疫疾患における生物学的製剤の現状と問題点. 呼吸 2007;26:352-356.
- 12) 亀田秀人, 竹内勤. リウマチ・膠原病内科からみた呼吸器病変. 日本胸部臨床 2007;66:450-455.
- 13) 亀田秀人. メシル酸イマチニブの膠原病治療薬としての可能性. 日本臨床免疫学会会誌 2007;30(3):165-173.
- 14) 亀田秀人, 長澤逸人, 竹内勤. 新規抗リウマチ薬による薬剤性肺障害. 治療 2007;89(12):3168-3175.
- 15) 亀田秀人, 西英子, 竹内勤. PM/DMに伴う間質性肺炎の治療. 呼吸 2008;27(2):148-153.
- 16) 亀田秀人. 全身性エリテマトーデス. 内科 2008;101:623-628.
- 17) 亀田秀人, 長澤逸人. 多発性筋炎/皮膚筋炎関連間質性肺炎. 日本胸部臨床 2008;67:370-377.
- 18) 亀田秀人. 強皮症治療薬としてのイマチニブの可能性. リウマチ科 2008;39(4):361-367.
- 19) 亀田秀人. イマチニブによる自己免疫疾患の治療. 血液・腫瘍科 2008;56:741-748.
- 20) 西村幸治, 亀田秀人. 間質性肺炎. リウマチ科 2009;41(4):344-350.
- 21) 亀田秀人. イマチニブ. 日本臨床免疫学会会誌 2009;32(2):77-84.
- 22) 亀田秀人, 小川祥江, 鈴木勝也, 長澤逸人. カルシニューリン阻害薬の使い方. 日本内科学会雑誌 2009;10:96-101.

### 2. 学会発表

- 1) 鈴木勝也, 亀田秀人, 天野宏一, 長澤逸人, 武井博文, 関口直哉, 西英子, 奥山あゆみ, 津坂憲政, 竹内勤. 関節リウマチに対するタクロリムス療法と血中濃度測定の有用性. 第104回日本内科学会講演会. 2007年4月、大阪.



- 2) 亀田秀人, 関口直哉, 長澤逸人, 天野宏一, 武井博文, 鈴木勝也, 西英子, 奥山あゆみ, 竹内勤. 関節リウマチに対するインフリキシマブ治療における  $\beta$ -D グルカン経時測定の有用性に関する研究. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (シンポジウム). 2007 年 4 月, 横浜.
- 3) 西英子, 亀田秀人, 鈴木勝也, 長澤逸人, 関口直哉, 武井博文, 津坂憲政, 天野宏一, 竹内勤. 膠原病に対するミゾリビンパルス療法の有用性の検討.
- 4) 鈴木勝也, 亀田秀人, 天野宏一, 長澤逸人, 武井博文, 関口直哉, 西英子, 奥山あゆみ, 小川祥江, 津坂憲政, 竹内勤. リウマチ性疾患に対するタクロリムス治療の安全性と有効性. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2007 年 4 月, 横浜.
- 4) Kameda H, Suzuki M, Ishigami H, Sakai H, Abe T, Takeuchi T. Morphological alteration and proliferation of synovial fibroblast-like cells in 3-dimensional culture are induced by platelet-derived growth factor and inhibited by imatinib mesylate. . 71<sup>th</sup> Annual Scientific meeting of ACR, November 2007, Boston, USA.
- 5) Suzuki K, Kameda H, Amano K, Nagasawa H, Sekiguchi N, Takei H, Nishi E, Okuyama A, Ogawa H, Tsuzaka K, Takeuchi T. Efficacy and safety of tacrolimus in patients with rheumatic disease: Appropriate clinical application for various rheumatic conditions. 71<sup>th</sup> Annual Scientific meeting of ACR, November 2007, Boston, USA.
- 6) 鈴木勝也, 長澤逸人, 亀田秀人, 近藤恒夫, 倉沢隆彦, 奥山あゆみ, 西英子, 武井博文, 関口直哉, 阿部治男, 津坂憲政, 天野宏一, 田中良哉, 竹内勤. リツキシマブ再投与後に急性増悪を認めた全身性エリテマトーデスの 2 症例. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2008 年 4 月, 札幌.
- 7) 鈴木勝也, 瀬戸山由美子, 鈴木美由紀, 吉本桂子, 亀田秀人, 津坂憲政, 天野宏一, 竹内勤. 関節リウマチ患者末梢制御性 T 細胞の量的質的異常と治療薬の与える影響. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2008 年 4 月, 札幌.
- 8) 近藤恒夫, 鈴木勝也, 亀田秀人, 長澤逸人, 倉沢隆彦, 奥山あゆみ, 西英子, 関口直哉, 武井博文, 阿部治男, 津坂憲政, 天野宏一, 竹内勤. 膠原病に対する経口シクロホスファミドパルス療法の安全性と有効性. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2008 年 4 月, 札幌.
- 9) 倉沢隆彦, 長澤逸人, 亀田秀人, 近藤恒夫, 奥山あゆみ, 武井博文, 関口直哉, 鈴木勝也, 阿部治男, 天野宏一, 竹内勤. 間質性肺炎急性増悪に対し生物学的製剤を含む併用療法が奏効した多発性筋炎の 1 例. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2008 年 4 月, 札幌.
- 10) Kondo H, Suzuki K, Kameda H, Nagasawa H, Nishimura K, Kurasawa T, Okuyama A, Nishi E, Sekiguchi N, Takei H, Abe H, Tsuzaka K, Amano K, Takeuchi T. 13th congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology. 2008 年 9 月, 横浜.
- 11) Suzuki K, Setoyama Y, Suzuki M, Yoshimoto K, Kameda H, Tsuzaka K, Amano K, Takeuchi T. Tacrolimus has pleioropic molecular effects on human regulatory T cells. 72<sup>th</sup> Annual Scientific meeting of ACR, October 2008, San Francisco, USA.
- 12) 近藤恒夫, 西英子, 亀田秀人, 西村幸治, 倉沢隆彦, 奥山あゆみ, 武井博文, 鈴木勝也, 長澤逸人, 天野宏一, 竹内勤, 田丸淳一, 岡輝明, 糸山進次. 急速進行性間質性肺炎に対してステロイドと免疫抑制薬 2 剤, エタネルセプト, イマチニブを投与した皮膚筋炎の 1 例. 第 19 回日本リウマチ学会関東支部学術集会. 2008 年 12 月, 高崎.
- 13) 西村幸治, 亀田秀人, 倉沢隆彦, 近藤恒夫, 奥山あゆみ, 西英子, 武井博文, 鈴木勝也, 長澤逸人, 阿部治男, 津坂憲政, 天野宏一, 竹内勤. 関節リウマチ合併間質性肺炎患者に対するトシリズマブ投与の影響. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009 年 4 月, 東京.
- 14) 亀田秀人. リウマチ性疾患における T 細胞制御の意義. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (サテライトシンポジウム). 2009 年 4 月, 東京.
- 15) Nishimura K, Kameda H, Kurasawa T, Kondo T,

Okuyama A, Nishi E, Takei H, Suzuki K, Nagasawa H, Abe H, Tsuzaka K, Amano K, Takeuchi T. Influence of tocilizumab to interstitial pneumonia (IP) complicating rheumatoid arthritis patients. The 9th World Congress on Inflammation. 2009年7月、東京.

16) 亀田秀人. 分子標的治療-Annual Review 疾患における有効性、安全性. 第37回日本臨床免疫学会総会. 2009年11月、東京.

17) 西村幸治、亀田秀人、倉沢隆彦、近藤恒夫、奥山あゆみ、西英子、武井博文、長澤逸人、天野宏一、竹内勤. 皮膚筋炎に合併した急速進行性間質性肺炎に対して多剤併用療法が奏効した一例。第20回日本リウマチ学会関東支部学術集会. 2009年12月、横浜.

#### H. 知的財産権の出願・登録

特になし